

SÉRIE A,
N° 3355

N° D'ORDRE
4227

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Jeanne ROUX, née BIEZ-CHARRETON

1^{re} THÈSE : **Contribution à l'étude des foies gras obtenus par intoxication.**

2^e THÈSE : **Propositions données par la Faculté.**

Soutenues le

devant la Commission d'Examen.

MM. PRENANT, *Président.*

M. COUTEAUX.

M^{lle} LE BRETON.

} *Examinateurs.*

LONS-LE-SAUNIER
IMPRIMERIE MAURICE DECLUME

1959

SÉRIE A,
N° 3355

N° D'ORDRE
4227

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Jeanne ROUX, née BIEZ-CHARRETON

1^{re} THÈSE : **Contribution à l'étude des foies gras obtenus par intoxication.**

2^e THÈSE : **Propositions données par la Faculté.**

Soutenues le

devant la Commission d'Examen.

MM. PRENANT, *Président.*

M. COUTEAUX.

M^{lle} LE BRETON.

} *Examineurs.*

LONS-LE-SAUNIER
IMPRIMERIE MAURICE DECLUME

—
1959



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen J. PÈRES.

G. JULIA	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	GALLIEN	T Embryologie.
FOCH	T Mécanique physique et expérimentale.	EICHORN	T Biologie végét. (P.C.B.)
DE BROGLIE	T Théories physiques.	DE CUGNAC	T Biologie végét. (P.C.B.)
PRENANT	T Anatomie et Histologie comparées.	M ^{lle} CAUCHOIS	T Chimie-Physique.
PÈRES	T Mécanique des fluides et applications.	THELLIER	T Physique du Globe.
M. CURIE	T Physique (S.P.C.N.)	L'HÉRITIER	T Génétique.
BARRABÉ	T Géologie structurale et géologie appliquée.	GRIVET	T Radioélectricité.
J. BOURCART	T Géographie physique et Géologie dynamique.	THIRY	T Mécanique générale.
PLANTEFOL	T Botanique.	DUBREIL	T Arithmétique et théorie des nombres.
GRASSÉ	T Evolution des êtres organisés.	QUELET	T Chimie organique.
PRÉVOST	T Chimie organique.	CAGNIARD	T Géophysique appliquée.
BOULIGAND	T Application de l'analyse à la Géométrie.	CHAMPETIER	T Chimie macromoléculaire.
CHAUDRON	T Chimie appliquée.	CUVILLIER	T Géologie structurale et Géologie appliquée.
WYART	T Minéralogie.	JUNG	T Pétrographie.
TEISSIER	T Zoologie.	TRILLAT	T Microscopie et diffraction électronique.
MANGENOT	T Biologie végétale.	WIEMANN	T Chimie organique structurale.
P. AUGER	T Physique quantique et relativité.	JACQUINOT	T Spectroscopie et physique céleste.
MONNIER	T Physiologie générale.	VASSY	T Physique de l'atmosphère.
PIVETEAU	T Paléontologie.	DESTOUCHES	T Théories physiques.
ROCARD	T Physique (E.N.S.).	M. PRUVOST	T Géologie.
H. CARTAN	T Mathématiques (E.N.S.).	AMIEL	T Chimie génér. (P.C.B.)
LAFFITTE	T Chimie générale.	HOCART	T Minéralogie.
FAVARD	T Géométrie supérieure.	J.-P. MATHIEU	T Physique (P.C.B.).
COULOMB	T Physique du globe.	COUTEAUX	T Biologie animale (P.C.B.).
M ^{lle} COUSIN	T Biologie anim. (S.P.C.N.)	MAY	T Biologie animale (P.C.B.).
CHRÉTIEN	T Chimie minérale.	CHOQUET	T Calcul différentiel et intégral.
P. DRACH	T Zoologie.	FELDMANN	T Biologie (P.C.B.).
KASTLER	T Physique (E.N.S.)	GUINIER	T Physique des solides.
EPHROSSI	T Génétique.	JOST	T Physiol. comparée.
WURMSER	T Biologie physico-chimique.	FORTET	T Calcul des probabilités.
RIVIÈRE	T Géologie (S.P.C.N.)	SCHWARTZ	T Calcul différentiel et intégral.
GAUTHERET	T Biologie végét. (P.C.B.).	CHOUARD	T Physiologie Végétale.
LUCAS	T Recherches physique.	MALAVARD	T Aviation.
A. THOMAS	T Biologie cellulaire.	BRELOT	T Calcul différentiel.
ARNULF	T Optique appliquée.	NORMANT	T Chimie organique.
MAX MORAND	T Enseignement de physique.	BENARD	T Chimie minérale.
SOLEILLET	T Physique.	BUVAT	T Botanique (E.N.S.).
FORTIER	T Mécanique expérimentale des fluides.	DUGUE	T Statistiques Math.
DANJON	T Astronomie.	GELOSO	T Chimie (S.P.C.N.)
LAPORTE	T Physique générale et Radioactivité.	SOULAIRAC	T Psychophysiologie.
JANET	T Mécanique analytique et mécanique céleste.	ULRICH	T Physiol. végétale.
PETIT	T Biologie maritime.	MARÉCHAL	T Optique théorique et appl.
QUENEY	T Météorologie et dynamique atmosphérique.	KIRRMANN	T Théories chimiques.
		CHADEFAUD	T Botanique.
		DESTRIAU	T Physique (M.P.C.).
		M ^{lle} LE BRETON	T Physiologie générale
		SALEM	T Mathématiques générales.
		LELONG	T Mathématiques générales.
		DEVILLERS	T Anatomie et Histologie comparées.
		EHRESMANN	T Topologie algébrique.

FRANÇON	T Physique (S.P.C.N.).	OLMER	T Energétique Générale.
GLANGEAUD.....	T Géographie physique et Géologie dynamique.	ROUAULT.....	T Physique générale.
GODEMENT	T Mathématiques (M.P.C.).	GAUTHIER.	T Méc. appliquée
PISOT.....	T Calcul des probabilités.	BARCHEWITZ.....	Chimie physique.
E. ROCH.....	T Géologie.	BROSSEL	Physique atomique.
SCHATZMANN	Astrophysique.	BUSER	Biologie animale (P.C.B.).
TERMIER	T Paléontologie stratigra- phique.	CAMUS.....	Biol. vég. (P.C.B.).
ZAMANSKY	T Mathématiques générales.	CASTAING	Physique générale.
LENNUIER	Physique (M.P.C.).	CURIEN.....	Minéralogie et cristallographie.
RIZET	Génétique.	MOYSE	Physiologie végétale.
ROUTHIER.....	T Géologie appliquée.	NOIROT.....	Evolution des êtres organisés.
M ^{me} TONNELAT ...	T Physiques théorique.	PANNETIER	Chimie (S.P.C.N.).
DIXMIER	T Mathématiques (M.P.C.).	POSSOMPES	Biologie animale (P.C.B.).
SOUCHAY	T Chimie générale.	PULLMANN.....	Chimie théorique.
AIGRAIN	T Electrotechnique.	TEILLAC	Physique nucléaire et radioactivité.
BRUSSET	Chimie minérale.	TONNELAT	Biol. physico-chimique.
M. LEVY	Physique théorique.	VILLE	Econométrie.
M ^{me} CHAIX	Chimie biologique.	WILLEMART	Chimie (P.C.B.).
M ^{me} HUREL-PY	Biologie végétale (P.C.B.).	DODÉ.....	T Chimie.
PIAUX	Chimie (P.C.B.).	FREYMANN	T Physique (S.P.C.N.).
BRUN.....	Mécanique expérimentale des fluides.	GUINOCHET	T Biol. vég. (ORSAY).
LEDERER.....	T Chimie des substances organiques naturelles.	ROLLET	T Chimie (P.C.B.).
M ^{me} DUBREIL.....	T Mathématiques	M ^{lle} JOSIEN	T Chimie (P.C.B.).
M ^{me} LELONG.....	T Mathématiques (E.N.S.).	CHEVALLEY	T Géométrie algébrique et théorie des groupes.
BELLAIR	T Géologie (S.P.C.N.).	ARNOULT	T Physique (ORSAY).
COTTE	T Physique (M.P.C.).	CHAPELLE	T Physique (P.C.B.).
DUBOIS J. E.	T Chimie (S.P.C.N.).	DELANGE.....	T Mathématiques (ORSAY)
LAMOTTE	Zoologie (E.N.S.).	DENY.....	T Mathématiques (Orsay).
LE ROLLAND	Mécan. des fluides.	GERMAIN P. T....	T Mécanique théorique des fluides.
MICHEL ANDRÉ ...	T Chimie (S.P.C.N.).	LUCAS G.	T Géologie.

Secrétaire Général.... CH. MONIER.

AVANT-PROPOS.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Histologie de la Faculté de Médecine de Paris. Il nous offre l'opportunité d'exprimer notre gratitude à tous ceux qui nous ont permis de le réaliser.

Nous remercions en premier lieu le Professeur Jean VERNE, qui nous accueillit dans son laboratoire et orienta nos recherches.

Nous exprimons également notre gratitude aux chercheurs qui nous aidèrent de leurs conseils : le Professeur CECCALDI, Madame HÉBERT, le Docteur COQUOIN-CARNOT, Monsieur et Madame CLÉMENT. Nous tenons également à remercier le personnel du laboratoire qui facilita notre travail.

Nous remercions respectueusement Monsieur le Professeur M. PRENANT pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse, et nous adressons notre vive gratitude à Mademoiselle LE BRETON et à Monsieur COUTEAUX qui ont bien voulu faire partie de notre jury et qui nous ont témoigné beaucoup de bienveillance.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INTRODUCTION.

Le foie gras apparaît depuis ces dernières années comme un symptôme lié à de multiples états pathologiques et parfois comme un stade préparatoire à des troubles plus graves encore : la notion de « stéatose » recouvre sans nul doute des processus biologiques très différents dont elle se trouve être une traduction commune du moins en apparence.

Ainsi, les foies gras par intoxication s'intègrent dans le cadre général des stéatoses hépatiques — ce cadre, trop vaste, nécessite donc un démembrement et c'est à rechercher des critères cellulaires précis, qu'ils soient de constitution (distinction entre infiltration, surcharge, dégénérescence) d'évolution ou de composition (quantitatifs et qualitatifs) que s'attachera ce travail, les foies gras par intoxication constituent une base d'étude commode en raison de leur caractère d'individualité par rapport à leur cause, individualité dont il est intéressant de rechercher si elle est réelle ou non.

C'est le foie gras par intoxication au tétrachlorure de carbone qui a été pris pour type.

TRAVAUX ANTÉRIEURS SUR LES FOIES GRAS PAR INTOXICATION.

Les premières constatations sont très anciennes, elles concernent les effets hépatotoxiques des anesthésies au chloroforme : CASPER en 1850, MOURLON en 1883, décrivent la « dégénérescence grasse ».

Les premiers essais expérimentaux sont faits en 1886 sur le chien à l'aide de chloroforme et sont ensuite étendus au pigeon en 1889.

Dans l'ensemble, les travaux ont un départ clinique, parfois agricole (sélénium) ils sont faits à des époques éloignées, sans rapprochement les uns avec les autres.

Mais il semble déjà qu'on puisse classer les toxiques du foie en deux groupes :

— les poisons minéraux : Phosphore, Arsenic, Sélénium, Antimoine, Fluor.

— les poisons organiques : solvants chlorés ; chloroforme, tétrachlorure de carbone, dichlorure d'éthylène, trichloréthylène, ou sol-

vants nitrés : trinitrotoluène ; ou autres encore : alcool éthylique, benzène, sulfure de carbone.

Quant à la phlorizine, elle peut être considérée comme un toxique du foie, bien que son action la plus connue soit sur les tubuli du rein.

Nous mettrons également à part les composés azoïques dont l'action cancérogène peut être regardée comme une action hépatotoxique.

1. — Les poisons minéraux.

L'arsenic produit à des doses massives une nécrose et une cirrhose à doses répétées (FOULERTON).

— Le Sélénium a les mêmes effets, il provoque des hémorragies du foie et à des doses répétées des cirrhoses (MOXON et RHIAN, LILLIE FRANKE et POTTER, GORTNER).

— L'Antimoine a été utilisé dans la production de foies gras de volaille (BORDAS).

— Le Fluor est signalé par CARLAV comme ayant les effets analogues sur le foie que l'arsenic et autres poisons.

— Le phosphore provoque une accumulation des lipides et des lésions périportales (MALLOR et TERROINE). L'effet toxique et la nécrose sont accrus par les régimes déséquilibrés (OPIE et ALFORD) : d'après BEST et RIDOUT, la choline n'a pas d'effet protecteur, mais favorise la régénération.

Les travaux les plus importants sont ceux de CALIFANO (1934). Ils montrent que la consommation d'oxygène et la formation de corps cétoniques est augmentée dans les cellules hépatiques. En 1937 le même auteur montre une diminution du pouvoir oxydant pour tous les acides gras.

Ces résultats ont été confirmés par les travaux d'ENNOR en 1942.

2. — Les poisons organiques.

Les travaux sont beaucoup plus nombreux.

Nous ferons une réserve en ce qui concerne l'intoxication alcoolique car la cirrhose alcoolique a surtout été étudiée d'un point de vue clinique, de plus il s'associe à l'intoxication des facteurs diététiques, l'alcool étant considérée comme donneur de calories, ce qui rend l'interprétation complexe.

L'histogénèse de ces cirrhoses a été suivie par CACHERA et LAMOTTE en 1950 par la technique des ponction-biopsies. Dans presque tous les cas (ils n'ont trouvés que 14 % d'exceptions), la cirrhose est précédée d'une stéatose qui peut être très étendue, puis il y a apparition d'un infiltrat abondant de cellules lymphoconjonctives et enfin installation de la cirrhose qui est très labile dans la plupart des cas (GIROUD), la régénération est favorisée par les facteurs lipotropes. Il semble qu'on puisse dissocier stéatose et fibrose (CACHERA) et il est très difficile de rapprocher les signes cliniques et les images histologiques ; cependant il semble qu'on puisse rapprocher stéatose et hypoglycémie (LE COUNT et SINGER, JUDD, KEJLER et RYNEARSON) et une certaine tendance à l'hyperprotéidémie (CACHERA).

A part le tétrachlorure de carbone et le chloroforme, les autres solvants ont donné lieu à des descriptions d'empoisonnements accidentels mais à fort peu d'expérimentation.

Le foie y montre toujours les mêmes lésions, infiltration lipidique, réactions inflammatoires et fibreuses si l'exposition aux vapeurs a été prolongée.

Dichloréthylène (LAZAREW, MULLER, HEPPEL et NEAL).

Trichloréthylène (MOSSINGER, STRAUSS et WILKINSON).

Sulfure de carbone (MEZZASALMA et CERBONE).

Trinitrotoluène (LIT et FREMANN) : provoque des lésions chez l'homme plus difficile à reproduire chez l'animal.

Ce sont le chloroforme et le tétrachlorure de carbone qui ont été le plus employés dans l'expérimentation.

Avec le chloroforme, les premières études ont été faites sur le chien ; on décrit une nécrose du foie ; par contre on constate une certaine résistance du pigeon au même toxique (HALL).

Puis de 1900 à 1930 des descriptions d'intoxications aiguës se suivent ; on note qu'il faut attendre 6 à 12 heures pour observer les premières lésions du foie avec infiltration graisseuse et nécrose centrolobulaire. La régénération est rapide (THIEN, BEVAN, HOWLAND). Les intoxications répétées conduisent à la cirrhose (LOEFLEER).

Avec le tétrachlorure de carbone les premiers travaux dont nous avons eu connaissance datent de 1923 ; ils ont été faits sur le chien (HALL et SCHILLINGER).

De nombreux autres travaux ont suivi sur le chien (BOELMAN, CHANDLER, DAVIS, THOMPSON, ROBBINS, MEYER et PESSOA) mais aussi sur le lapin (HALL) sur le rat (LAQUET et CAMERON), le poulet et le singe se montrant résistants (HALL).

On peut résumer les résultats ainsi : l'administration d'une dose unique et massive, produit rapidement une nécrose hépatique et des variations dans les lipides, les effets maximum sont visibles 24 heures après. La dose va de 0,016 à 1 cm³ par kg. Une dégénérescence hydro-pique est observée ainsi qu'une pycnose des noyaux. Ces lésions sont centrolobulaires, alors qu'un effort de régénération part des régions périportales. Ces différents effets sont exposés de façon très détaillée dans le travail de LANSON et GARDNER (1923). L'attaque chronique conduit à une cirrhose, après 5 à 6 mois de traitement chez le chien (LANSON et WING) plus rapidement chez le rat (CAMERON) ; une régénération reste possible.

Une action cancérogène a été montrée par différents auteurs (EDWARDS et DALTON, ESCHENBOEIMER et MILLER, TSUBOI et STOWELL). Cet hépatome ressemble à celui induit par l'O.aminoazotoluène, des périodes de régénération entre les périodes d'intoxication ne sont pas nécessaires. Mais cet effet ne semble exister que chez la souris.

Les régimes déséquilibrés qui lésent le foie aggravent l'action toxique, en particulier les régimes riches en lipides, peut être à cause d'une certaine dissolution des solvants dans les graisses (GYORGI). Les facteurs lipotropes : choline, méthionine, vitamine E n'ont pas d'action protectrice, que le régime soit pauvre ou riche en protéines, la choline active seulement la régénération (BEST et RIDOUT 1939, DRILL 1947).

Les conséquences de l'intoxication sur les différents métabolismes du foie (protéines, lipides, glucides) ont été étudiées ces dernières années. Les résultats obtenus sont confus et même contradictoires. La respiration de base du tissu hépatique est perturbée (MEIER et THOENES) ; ENNOR constate une augmentation de QO_2 ; CHRISTIE et JUDAH une diminution, avec une désorganisation du cycle des acides tricarboxyliques. Pour BIAGANI, il n'y a aucune modification du quotient respiratoire ; pour le même auteur, le foie conserve la capacité d'oxyder le butyrate.

Il y a abaissement des phosphatides à choline du plasma (HARTMANN et LEUSCHER) ; augmentation de la cétogénèse (ENNOR) ; diminution de l'acétylcholinestérase (ELLIS, BAUDERS, BODANSKY) dans le foie et dans le plasma.

La méthionine augmente de 40 % le taux d'excrétion des lipides totaux et la choline de 300 % (MONTINI et ARRIGO).

Les résultats sont encore plus disparates en ce qui concerne le métabolisme du glucose.

D'après VALORI l'intoxication n'entrave pas le dépôt de glycogène dans le foie ou le muscle. Il y a cependant une intolérance au glucose (DE LUCIA), et diminution de la glycogénolyse (LACHAUD).

MEIER et THOENES concluent à une mauvaise utilisation du glucose.

Il y a chute des protéines hépatiques (ARRIGO) avec augmentation des acides aminés libres (WAHI et TANDON) et diminution de la l-aminoacide-oxydase (DIANZANI).

ENNOR et STOCKEN constatent une augmentation du phosphore inorganique, du phosphore total et de l'A.T.P. ; mais FLOCK, BOLLMANN et MANN n'acceptent pas ces résultats. En général DIANZANI trouve une diminution des pyridines-nucléotides, qui est confirmée par SEVERI.

A l'heure actuelle on différencie les stéatoses par les moyens qui les provoquent. En dehors des toxiques qui viennent d'être énumérés on peut les classer de la façon suivante :

1. — Les conditions de milieu.

Le froid provoque une stéatose dans les premières heures qui suivent l'augmentation de la thermolyse (SCHAEFFER et POLLACK).

2. — Les facteurs nutritionnels.

a) *Les régimes pauvres en protéines.*

Ces régimes représentent plusieurs carences : carence en choline et en méthionine qui est son précurseur, en facteurs lipotropes, en acides aminés indispensables à la synthèse des protéines cellulaires.

La stéatose est obtenue, que la déficience en protéines soit réalisée par excès de lipides ou de glucides. Nous mettrons à part les déficiences obtenues par ingestion d'alcool, (ASHWORTH) car il y a en plus un phénomène d'intoxication.

b) *Le régime normal additionné de cholestérol.*

Par ce régime le foie gras est obtenu chez toutes les espèces. Il donne lieu à une stéatose très intéressante par le caractère de son

évolution qui n'est jamais pathologique (OKEY, CHANUTIN, BEST et RIDOUT, CLÉMENT et LE BRETON).

c) *Les régimes sans acides gras essentiels.*

La stéatose qu'ils déterminent est des plus intéressante, mais la lenteur avec laquelle les acides polyéthyléniques disparaissent de l'organisme (ENGEL) rend les résultats variables et difficiles à comparer.

d) *Excès ou absence de vitamines du groupe B.*

La vitamine B₁ en excès provoque une stéatose alors que les vitamines B₆ et B₁₂ seraient lipotropes dans certaines conditions. L'acide panthoténique serait stéatosant chez le rat. Dans l'ensemble les résultats sont assez confus.

e) *Le jeûne.*

Si chez le chien on peut montrer une infiltration graisseuse vers le septième jour après le début de l'inanition (JUNKERSDORF et KOHL) et que chez la souris BEST, BARET et RIDOUT constatèrent une surcharge en acides gras après 32 heures de jeûne, le rat n'est pas un animal de choix pour ces expériences ; TERROINE ne trouve aucune modification, nous n'en n'avons pas trouvé dans une expérimentation antérieure.

3. — Déséquilibres hormonaux.

Les foies des animaux dépancréatés ont été très étudiés ; dès 1890 VON MERING et MINKOWSKI observèrent une surcharge de 30 à 40 %.

Les surcharges se constituent surtout par excès des glandes qui élaborent des hormones antagonistes, au premier plan desquelles il faut mettre la surrénale et l'hypophyse. La corticostimuline et l'hormone de croissance provoquent une mobilisation des lipides.

Le rôle des hormones sexuelles dans le métabolisme du foie, s'il est indiscutable reste confus.

4. — Les rayons X.

Les radiations X déterminent des stéatoses (CHEVALLIER et BURG).

Des lésions du type cirrhotique ont été observées chez le chien (GASTRO-MENDOZ 1948).

Un regroupement des résultats est maintenant nécessaire : quelles sont les manifestations communes à la plupart des stéatoses ?

Nous les développerons suivant trois points :

leur évolution.

les troubles du métabolisme qui les accompagnent.

la composition chimique du foie gras.

1. — L'évolution.

Lorsque l'animal est soumis un temps suffisant aux divers agents qui la provoquent, l'évolution est caractéristique.

Le foie gras peut persister longtemps sans qu'apparaissent des signes histologiques ou fonctionnels pathologiques. C'est le cas du foie gras engendré par un régime riche en cholestérol.

Toute une série de stéatoses d'origines diverses, nutritionnelle, endocrinienne ou toxique, évolue vers la cirrhose.

Qu'il s'agisse de stéatoses expérimentales ou cliniques, le déroulement des phénomènes est toujours le même. Les phases successives sont une stéatose ; une collagénisation ; une sclérose suivie d'une cirrhose. Cette suite de phénomènes a été décrite chez le rat par GYORGY et GOLDBLATT, HIMSWORTH et GLYN ; chez le chien par CHAIKOFF ; chez l'homme par CACHERA.

Il s'associe une nécrose à la stéatose et à la cirrhose. Ce phénomène doit être dissocié des deux autres images (HIMSWORTH).

Il y a prédominance de l'un ou de l'autre suivant que la déficience est plus forte en donneurs de groupes SH ou en facteurs lipotropes (HANDLERS, FOLLIS).

2. — Les troubles métaboliques accompagnant les foies gras.

L'essentiel des résultats peut se résumer de la façon suivante, très schématiquement.

Métabolisme des lipides.

Il y a chute de l'activité des enzymes oxydant les acides gras, ainsi que des divers enzymes hydrolysant, lipases, estérases. L'oxydation anormale se traduit par une augmentation des corps cétoniques dans le sang et les urines. Il y a un ralentissement de la vitesse de renouvellement des phospholipides hépatiques et chute des lipides sanguins.

Métabolisme des glucides.

En général il n'y a pas empêchement de l'accumulation du glycogène et de la glycogénolyse.

Les résultats sont contradictoires quant à l'oxydation du glucose.

Métabolisme des protéines.

Les résultats sont peu nombreux. Il y a baisse des protéines sériques avec baisse du rapport albumines/globulines. Il y a augmentation des acides aminés du sang et baisse de l'urée.

3. — La composition chimique des foies gras.

Il existe deux catégories chimiques de foies gras.

Les foies par surcharge uniquement glycéridique : foies gras hormonaux, foies gras par carence protidique, foies gras par intoxication. Les foies comportant un excès de glycérides et d'esters du cholestérol en proportions variables : foies gras par addition de cholestérol au régime, foies gras par ingestion de foie cru ou sec et certains déséquilibres vitaminiques.

Il existe peu d'étude qualitative des acides gras.

CHANNON et VILKINSON montrent une influence des lipides alimentaires sur les acides gras du foie dans les régimes hypoprotéiques.

RAMAN a montré que dans les régimes sans choline, la nature des acides gras des phosphatides change. Enfin HALLIDAY montre une évolution de l'indice d'iode dans les carences en pyridoxine.

La teneur en eau est constante (TERROINE), la teneur en protéines varie, elle est souvent abaissée et s'élève au contraire dans le foie gras au cholestérol (LE BRETON et Coll.).

D'une façon générale, la composition du foie n'est pas connue ou incomplète et les résultats sont difficilement comparables parce qu'ils sont exprimés d'une manière différente.

Ce bref résumé des principaux aspects du problème des stéatoses hépatiques montre que rien, dans les examens biochimiques et histologiques, ne permet de distinguer les stéatoses d'origines diverses, seule la connaissance des facteurs les produisant et des conditions de milieu permet de prévoir l'évolution du foie gras.

On est tenté de penser qu'un critère plus précis peut être trouvé au cours de l'observation des phénomènes biologiques qui précèdent ou qui accompagnent le début de l'infiltration lipidique.

Devant un problème aussi vaste, qui met en cause tout le chimisme de la « fonction hépatique », un grand nombre d'investigations sont possibles et souhaitables. Cependant un point a plus particulièrement retenu notre attention ; la composition en acides gras des lipides accumulés est-elle particulière à une stéatose, subit-elle une modification au cours du dépôt ?

Ce sont ces questions qui nous ont servi d'hypothèse de travail.

En effet les travaux sur les lipides du foie gras toxique sont très peu nombreux. Depuis les travaux de TERROINE qui avait permis de conclure à un transport centripète des graisses des réserves vers le foie au cours de l'intoxication par l'huile phosphorée ; nous n'avons trouvé qu'un travail relatant les variations des lipides (Glycérides, Phospholipides et Cholestérol) à la suite d'une injection de tétrachlorure de carbone.

Une étude qualitative et quantitative des lipides du foie au cours de l'intoxication était souhaitable. Les travaux de DIANZANI, de CHRISTIE et JUDAH et une récente étude de OBERLING et ROUILLER, au microscope électronique montre une attaque préférentielle des mitochondries par le tétrachlorure de carbone et mettent l'accent encore une fois sur l'utilité d'une étude à l'échelle cellulaire. Nous disposons pour cela des techniques de centrifugation différentielle, mises au point par LE BRETON et Coll. et utilisées par ces auteurs dans l'étude du foie de rat normal et porteur d'hépatome.

Pour démembrer la notion de stéatose toxique envisagée comme réponse de la cellule hépatique à une agression, nous projeterons le problème sur deux plans.

D'une part sur le plan cytochimique tant anatomique par une étude histologique et histochimique du tissu, qu'analytique par l'estimation quantitative et qualitative des lipides à l'échelle de la cellule.

D'autre part sur le plan comparatif en rapprochant les résultats obtenus par intoxication de ceux obtenus dans les mêmes conditions sur des foies dont la stéatose est obtenue par des facteurs diététiques simples.

Nous voulons insister sur l'intérêt de mener l'expérimentation de front par les deux disciplines, histologique et biochimique. Il serait très fructueux de pouvoir rapprocher les résultats biochimiques des images histologiques.

Dans le but de vérifier l'hypothèse d'une variation de la constitution des lipides au cours de l'intoxication, nous mènerons nos investigations de la façon suivante.

Plusieurs séries d'animaux seront intoxiquées par le tétrachlorure de carbone ; celui-ci a été choisi parce qu'il a été le plus étudié. Les lipides sont dosées sur chaque fraction cellulaire séparée, et les acides gras caractérisés en regard du groupe de lipides auxquels ils appartiennent et de la structure cellulaire envisagée. L'histogénèse de la stéatose est suivie par les méthodes histologiques classiques, et un état dynamique du tissu hépatique est suivi par une recherche histochemique de son activité hydrolysante (estérases et phosphatases), du glycogène et des lipides. Une étude semblable est faite sur des animaux ayant ingéré pendant un temps suffisant, soit un régime où l'équilibre choline-lipides-protides est rompu, soit un régime équilibré, additionné de cholestérol. Ces deux régimes ont été choisis pour leur simplicité et parce qu'ils ont été l'objet d'études récentes complètes.

PREMIÈRE PARTIE.

MATÉRIEL ET MÉTHODES.

I. — PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL.

1. — Choix des animaux.

Nous avons choisi des rattes de race Wistar provenant d'un élevage fait au laboratoire. L'animalerie est maintenue à une température constante de 21°C et les animaux sont nourris d'un régime équilibré semisynthétique dont la composition est la suivante :

farine de blé complète	65 g
farine de lin	7 g
farine de luzerne	2 g
levure de bière	3 g
crotons de viande	20 g
poudre de foie	2 g
CO ₃ Ca	0,5
ClNa	0,5
pour 100 g de gâteaux secs.	

Ces animaux pris à 200 g environ après avoir eu une portée de rats constituent nos animaux de référence.

Le choix s'est porté sur des femelles qui selon HARRISON [119] forment plus facilement des foies gras que les mâles. Cependant les périodes de traitement étant de courte durée, 6 jours au plus pour les intoxications, une intervention du cycle ovarien est possible modifiant la réponse à l'agression suivant l'époque où elle est placée dans ce cycle. Nous avons intoxiqué des mâles dans les mêmes conditions et nous n'avons noté aucune différence dans les réponses, dépassant l'amplitude des variations individuelles.

Cette observation n'a pas d'utilité lorsque les animaux sont soumis aux régimes hyperlipidiques puisque ceux-ci ont une durée de 3 à 6 mois, les résultats que nous obtenons sont donc dans les conditions définies, caractéristiques des femelles.

2. — Traitements.

a) INTOXICATION.

Notre intention première était d'intoxiquer les animaux par inhalation de façon à se rapprocher le plus possible des conditions cliniques humaines d'intoxication professionnelle. Nous pouvions suivre les travaux de LANSON et GARDNER (1923), ROBBINS (1939), FRISSIGER et LOGER (1941) etc.

Nous avons installé un appareil d'après le schéma suivant :

Les rats sont placés sous une cloche avec une nourriture suffisante. L'aération est assurée par l'aspiration d'une trompe à eau. Les vapeurs toxiques sont introduites par un flacon latéral traversé d'un courant d'air réglable. Si la température est constante on peut constater que la quantité de toxique est approximativement proportionnelle à la vitesse de passage des bulles d'air dans le liquide toxique. La quantité de toxique qui a traversé l'atmosphère de la cloche est évaluée par pesée du flacon.

Malheureusement malgré tous les réglages les doses sont difficiles à reproduire. Les courants d'air refroidissent l'atmosphère de la cloche sous laquelle il existe une certaine dépression, deux facteurs auxquels les animaux sont sensibles et qui modifient leur respiration. D'autre part la quantité respirée par l'animal reste inconnue.

Pour toutes ces raisons nous avons comparé les résultats avec d'autres obtenus en intoxiquant les animaux par injection sous-cutanée pratiquée dans la cuisse. Nous pensons que cette méthode est préférable à l'ingestion du toxique comme l'on pratiqué Mc CLOSKEY et Mc GETTÉE [163], MEIER et PESSOA [174], STOWELL et LÉE [210], WAHI et TANDON [230] pour ne citer que les plus récents ; l'injection péritonéale présente le risque de léser directement le foie comme le signalent LAQUET et CAMERON [137]. Ces auteurs montrent en effet qu'il y a une action physique directe sur le lobe le plus proche du point d'injection, et à partir de là une répartition inégale des lésions dans les différents lobes. Nous avons pour notre part dans toutes nos expériences observé un aspect identique de tous les lobes.

Pour déterminer les doses nous nous sommes inspirés des travaux de LAQUET CAMERON et LANSON qui observent que des injections sous-cutanées de 0,016 à 0,03 cm³ de CCl₄ par kilogramme produisent des lésions minimales ; 0,3 à 1 cm³ par kg un changement marqué mais rarement fatal. Cela pour une injection unique, l'effet le plus étendu étant observé 24 heures après l'injection.

Avec des doses faibles et répétées nous savons qu'il s'installe une fibrose, l'hépatome n'a été observé que chez la souris EDWARDS (1941) [80], ESCHENBOEIMER (1946) [90]. D'après ces données et suivant notre but qui était d'étudier l'installation et la nature de la stéatose hépatique dans des conditions bien définies : intoxications, conditions nutritionnelles modifiées, nous avons établi les doses suivantes.

Injections répétées.

- 1 cm³ par kg pendant 3 jours,
- 2 cm³ par kg pendant 3 jours,
- 1 cm³ par kg pendant 6 jours.

Inhalation continue.

0,5 g par heure pendant 12, 24, 36, 48, 60, 72 heures.

Pendant 48 heures 0,5, 0,68, 0,75 g par heure.

Ces trois doses étant les mêmes que les trois dernières de la série précédente mais administrées de façon différente. Il faut faire remarquer que compte tenu de l'imprécision de cette méthode elle permet de soumettre l'animal à une intoxication continue. Nous verrons que ceci a une certaine importance dans l'interprétation des résultats obtenus.

b) RÉGIMES.

Nous désirons comparer la stéatose obtenue dans les intoxications aux stéatoses diététiques. Les étudiant en quelque sorte comme référence nous désirons mettre en œuvre le plus petit nombre de facteurs possibles. Nous avons donc laissé de côté les stéatoses par carence protidiques et suivant les travaux de LE BRETON et coll., choisi deux régimes étudiés par ces auteurs.

En effet à un régime standard synthétique parfaitement équilibré, tel que l'addition d'un cancérigène ne produit aucun hépatome, l'addition de 5 % de cholestérol détermine l'apparition en quelques mois d'une stéatose. CLÉMENT et LE BRETON [54].

De même si dans ce régime riche en protéines contenant 200 mg de choline pour 10 g de saindoux on modifie uniquement le rapport choline/saindoux on obtient une infiltration graisseuse LE BRETON [142].

Nous avons adopté les compositions suivantes :

Régime I.

Enrichi en cholestérol. Formule pour 100 g

Caséine délipidée	21
Saccharose	35
Amidon éclaté gonflant	25
Graisse hydrogénée Ref 32, M.S.I.O.....	10
Algagel	2,5
Mélange salin	5

Vitamines pour 100 g.

B ₁	0,002
B ₂	0,002
Pantothénate de Ca	0,004
PP	0,002
Biotine	20 γ
Acide folique	100 γ
Tocophérol	0,050
Calciphérol	20 γ
Acétate de vitamine A	200 γ
CHOLINE	0,2 %
CHOLESTÉROL	5 %

Régime II.

Caséine délipidée	21
Saccharose	29,2
Graisse hydrogénée Ref. 32, M.S.I.O.	20
Algagel	2,5
Amidon éclaté gonflant	20,8
Mélange salin	5

Vitamines pour 100 g.

Même mélange que dans le régime précédant.

CHOLINE 0

Nous avons préféré une graisse hydrogénée de composition connue totalement dépourvue de phospholipides au saindoux généralement employé.

Le régime I sera donné pendant 6 mois à des femelles adultes. Le régime II pendant 3 mois.

L'ensemble de cette étude porte sur 120 rattes. Les animaux sont sacrifiés par saignée après un jeûne de 15 heures pour que tous les foies soient dans un état comparable.

Aussitôt après la mort de l'animal le foie est prélevé, lavé, à l'eau glacée et essoré dans un papier filtre.

Des prélèvements sont faits dans les fixateurs histologiques et histo-chimiques. Le reste est broyé au mortier glacé, ou mieux dans un broyeur de Latapie.

La purée rapidement pesée est soumise aux techniques biochimiques. Une partie est traitée directement pour doser les lipides et l'azote protéique sur le tissu total ; l'autre partie est soumise aux méthodes de fractionnement cellulaire.

Comparativement au tissu total les fractions séparées sont traitées pour doser les lipides par leurs acides gras et l'azote protéique de façon à dresser un bilan de la composition en lipide de la cellule hépatique.

On tentera d'identifier par l'indice d'iode et par la chromatographie sur papier les acides gras isolés des différentes structures cellulaires.

Nous pourrons alors comparer les trois types de stéatoses par les modifications observées sur l'ensemble du tissu hépatique grâce à l'histologie et, dans la cellule grâce aux résultats cytochimiques et biochimiques.

II. — TECHNIQUES DE RECHERCHES.

A. — Techniques histo-chimiques.

Nous associerons dans notre étude deux méthodes générales. Les méthodes de différenciation tinctoriales qui par des colorations sélectives montrent la répartition des divers tissus dans l'organe.

Les méthodes cytochimiques qui étudient le cytoplasme, ses inclusions et quelques uns de ces constituants, et le noyau. C'est ce double but qui nous a guidé dans le choix des fixateurs initiaux.

Ainsi nous employerons :

Le formol à 10 % pour les méthodes courantes et la recherche des lipides ;

Le fixateur de REGAUD (bichromate de potassium à 3 %, formol neutre) pour la mise en évidence des mitochondries ;

L'acétone glacée pour les recherches enzymatiques.

Aussitôt après la mort de l'animal nous prélèverons quatre petits fragments, deux sont placés dans le formol et deux très petits dans l'acétone et dans le Regaud.

Les colorations d'histologie courante comprennent une double coloration à l'hémalum-éosine, une coloration au « trichrome de MASSON » mettant en évidence le tissu conjonctif coloré en vert par le vert lumière, les deux sur coupes à la paraffine.

1. — Les mitochondries.

Après une fixation de 24 heures à la glacière, les pièces montées à la paraffine sont colorées suivant deux méthodes :

La technique de REGAUD qui, après un mordantage à l'alun de fer colore les mitochondries en noir par l'hématoxyline (nous n'avons pas fait de coloration de fond du cytoplasme).

La technique d'ALTMANN qui colore les mitochondries en rouge vif.

2. — Les enclaves.

a) *Les enclaves lipidiques.*

La recherche des lipides est faite sur coupes à congélation après fixation au formol à 10 %. Les coupes sont colorées dans une solution de Soudan III et montées au sirop d'Apathy.

Les lipides apparaissent en gouttelettes rouges orangées. Une coloration des noyaux peut être faite au préalable par la méthode de del RIO ORTEGA au carbonate d'argent. Nous avons fait en même temps une coloration au noir soudan dans les mêmes conditions. Les noyaux étaient cette fois colorés au rouge solide.

b) *Les enclaves glycogéniques.*

Nous avons employé la méthode à l'acide périodique Schiff, dite PAS selon la technique de MAC MANUS.

La difficulté de trouver un fixateur parfait nous a conduit à faire la coloration après formol et après acétone.

Le mécanisme de la réaction est bien connu, les polysaccharides sont oxydés par l'acide périodique qui coupe le cycle fumarique selon la réaction de MALAPRADE, donnant naissance à des aldéhydes qui se colorent en rouge avec le réactif de Schiff. Les coupes à la paraffine amenées jusqu'à l'eau sont traitées 5 minutes par une solution aqueuse d'acide périodique à 5 % ; lavées soigneusement à l'eau distillée et traitées 15 minutes au réactif de Schiff ; rincées 2 minutes chaque fois dans trois bains d'eau sulfureuse ; lavées 3 à 5 minutes dans l'eau courante. Une coloration de fond est faite à l'hémalum. Le matériel PAS positif apparaît coloré en rouge. Il est généralement admis d'après

HOTCHKISS que cette réaction très employée est spécifique des polysaccharides. Mais depuis ces dernières années on apporte quelques réserves à cette interprétation.

Si on se rapporte à une récente revue de GABE [95] on voit que si parmi les réactions d'oxydation employées, l'oxydation périodique est la meilleure ses limites d'action sont assez larges. En effet il se forme deux groupes carbonyles primaires à partir des groupements 1-2 glycol, 1 hydroxy-2 amino, 1 hydroxy-2 alkylamine, 1 hydroxy-2 cétonique.

Donc cette réaction n'est pas spécifique des polysaccharides, en particulier les protéines où la sérine et la tréonine se trouvent en position terminale donnent la réaction, l'hydroxylysine peut la donner quelque soit sa place. Parmi les lipides la sphingomyéline, la céphaline, la cardiolipine, les phospho-inositines donnent la réaction.

Il faut donc adjoindre à cette technique des réactions de contrôle.

Elles sont de deux sortes :

Une réaction de blocage, soit par méthylation selon LILLIE (1954) soit par acétylation complétée d'une saponification qui selon Mac MANUS et CASON ne libèrent après l'acétylation que les groupes 1-2 glycol.

Les réactions de digestion : par l'hyaluronidase selon MANOZZITORINI 1942, réaction très discutée par suite des grandes différences de réactivité des divers préparations enzymatiques. La digestion par l'amylase, la plus employée, soit qu'elle provienne d'une préparation commerciale, soit qu'on utilise l'amylase de la salive. Malheureusement ces préparations ne sont pas pures elles contiennent en plus de la ribonucléase, peut-être quelques protéases.

C'est cependant celle que nous avons utilisée, nous en connaissons les défauts, mais elle est d'interprétation aisée. Nous concluerons à la présence de glycogène lorsque l'amylase de la salive fera disparaître la réaction.

3. — Les enzymes.

a) *Les phosphomonoestérases.*

Plus généralement appelées phosphatases alcalines.

Ce sont les enzymes qui catalysent l'hydrolyse des monoesters de l'acide orthophosphorique à un pH voisin de 9.

Nous utiliserons la technique de GOMORI [99] qui permet d'opérer sur coupes histologiques normales après fixation à l'alcool ou l'acétone.

Elle consiste à faire incuber les coupes à 37° dans une solution contenant du glycérophosphate de sodium (mélange d' α et de β) et du nitrate de calcium, maintenu à pH 9 par un tampon au véronal sodique. Sous l'action de la phosphatase l'ion phosphorique libéré précipite sous forme de phosphate de calcium qui incolore sera « visualisé » par une série de réactions qui conduisent au sulfure de cobalt noir.

Les pièces, aussi petites que possible, sont fixées 12 à 24 heures dans l'acétone glacée puis montées rapidement jusqu'à la paraffine. Les

coupes sont utilisées immédiatement, lavées à l'eau distillée après déparaffinage et incubées 2 heures dans le mélange suivant :

glycérophosphate de sodium à 2 %	20 cm ³
véronal sodique ajusté à pH 9,4	20 cm ³
nitrate de calcium à 2 %	10 cm ³
compléter à 100 cm ³ .	

Les témoins sont faits dans les mêmes conditions sans glycérophosphate. On rince bien à l'eau distillée et on traite 2 minutes dans une solution de nitrate de cobalt à 1 %, bien rincer et placer dans un bain d'eau distillée contenant 10 gouttes de sulfure d'ammonium pendant 2 minutes, rincer à l'eau courante, monter dans l'huile de cèdre.

La réaction se montre sous forme d'un précipité noir.

Pourvu que l'on s'astreigne à faire des témoins la réaction est d'une excellente spécificité.

Cependant il existe toujours une diffusion à l'intérieur de la cellule et même d'un point riche vers un point sans activité. D'autre part des éléments comme le noyau peuvent avoir une affinité particulière pour le phosphate de calcium. Il faudra donc conclure avec beaucoup de prudence. On peut dire en résumé, qu'une perte importante de l'activité survient au cours des manipulations, qu'une fraction seulement des phosphatases, les desmoenzymes sont décelées histochimiquement, que la localisation est possible à l'échelle tissulaire, difficile à l'échelle cellulaire.

Dans le foie la réaction est toujours faible ou nulle dans la cellule hépatique normale, on la remarque dans les espaces portes autour des capillaires et dans les nucléoles.

b) *Les estérases non spécifiques ou aliestérases.*

Il existe deux grands groupes de techniques : la technique des tweens de GOMORI, la technique des colorants azoïques de SELIGMAN. Nous avons utilisé la technique de GOMORI [101].

Elle utilise les mêmes principes que la technique des phosphatases mais ici le substrat est un ester d'acide gras rendu soluble grâce à l'emploi des tweens. Nous utilisons le tween 60 (G 90 96 CJ Atlas powder C°) qui est un monostéarate ; le tissu est fixé 24 heures dans deux bains d'acétone froid, puis monté rapidement à la paraffine. Les coupes sont incubées après déparaffinage, 15 heures à 37°C et à pH 7 dans le bain suivant :

Solution de stock I	50 cm ³
Solution de stock II	2 cm ³
(Solution I : glycérine	150 cm ³
Chlorure de calcium à 10 %	50 cm ³
Tampon maléate à pH 7	50 cm ³
Compléter à 1000.	

Solution II : solution à 5 % de tween 60
Conserver à la glacière).

Après l'incubation on rince à l'eau distillée puis on place 10 minutes dans une solution de nitrate de plomb à 1% qui substituera le plomb au calcium dans le précipité de stéarate.

Après un rinçage soigneux les préparations sont traitées 1 minute par une solution de sulfure d'ammonium très diluée. Coloration de fond à l'hémalum, montage à l'huile de cèdre.

Les lieux d'activité enzymatique apparaissent colorés en noir intense. Des préparations témoins sont faites en supprimant le tween. L'activité de l'estérase est liée aux granules cytoplasmiques. Les noyaux en sont dépourvus chez les mammifères.

4. — Les acides nucléiques.

Le test de BRACHET.

Les ribonucléines se colorent par la pyronine lorsque la préparation est traitée par le mélange de vert de méthylpyronine selon UNNA PAP-PENHEIM, tandis que les desoxyribonucléines fixent le vert de méthyl [27, 28].

Cette réaction n'ayant pas une spécificité suffisante, des préparations de contrôle sont traitées par la ribonucléase qui dépolymérise activement les acides ribonucléiques et les fait passer en solution. Après ce traitement la colorabilité due au R.N.A. disparaît. Le mécanisme de la réaction est mal connu. D'après KURNICK la différence de colorabilité des deux acides serait due à leur différence de polymérisation, le D.N.A. hautement polymérisé, le RNA plutôt sous forme de macromolécules à taux de polymérisation assez bas.

Les pièces sont fixées à l'acétone ou au formol à 10 %. Les coupes à la paraffine sont placées 25 minutes à 37° dans le mélange de Unna, rincées, différenciées dans l'alcool à 70°, deshydratées et montées. Le test à la ribonucléase consiste à placer les coupes 1 heure à 65° dans une solution de ferment à faire ensuite la coloration et à comparer les lames.

En conclusion une coloration rouge par le mélange de Unna constitue une indication de la présence d'acide ribonucléique, cette coloration n'est pas spécifique mais la disparition de la coloration par la ribonucléase est une bonne preuve de l'identité du matériel réactif. La non suppression de la réaction est une présomption mais non une preuve de l'absence de RNA.

Ce test est une indication utile de la présence de DNA. Nous n'en discuterons pas la valeur spécifique car il existe pour la recherche et l'étude de cet acide la réaction de FEULGEN dont la valeur qualitative et quantitative est indiscutable. Nous apprécierons la colorabilité au vert de méthyl comme une simple indication.

B. — Techniques biochimiques.

1°) Méthodes de fractionnement cellulaire.

La technique que nous avons utilisée dérive de celle mise au point par HOGEBOOM, SCHNEIDER et PALLADE en 1948 [128], qui sépare les constituants cellulaires en quatre fractions : noyaux, mitochondries, microsomes, cytoplasme, dans le saccharose hypertonique. Depuis, de très nombreuses modifications ont été apportées : introduction de mi-

lieux non aqueux [236] de saccharose 0,44 M ajusté à pH 6 (WITTER) ou de saccharose 0,25 M ajusté à pH 7,6 (NOVIKOF [185]). Cependant ces méthodes sont adaptées à des buts particuliers qui ne sont pas les nôtres, elles ont été étudiées pour isoler une structure très pure au détriment des autres et ne sont pas quantitatives. Nous désirons analyser les lipides, substances insolubles dans l'eau, nous ne serons pas gêné par un milieu de séparation aqueux, mais nous voulons établir un bilan, donc nous avons besoin d'une méthode quantitative, et de comparer les lipides présents sur les diverses structures cellulaires, ce qui exige un bon état de pureté.

Nous avons donc adopté la méthode mise au point par CHAUVEAU et CLÉMENT en 1951 [48]. Elle garantit un fractionnement quantitatif des structures cellulaires satisfaisant aux critères modernes de pureté. Le microscope à contraste de phase et le microscope électronique les montrent dans un état de conservation parfait, intactes pour la plupart et ne se souillant pas les unes les autres.

D'autre part un détail présentait pour nous un grand intérêt, une centrifugation de l'homogénat tissulaire à la vitesse maximum de nos centrifugeuses (Internationnal model SR 2) sépare d'emblée les lipides libres du cytoplasme, représentant les gouttelettes de réserve vues sur les préparations microscopiques. Cette fraction qui prend un très grand développement dans les foies gras aurait souillé toutes les structures.

Le foie est prélevé, lavé à l'eau distillée glacée ; séché et placé dans un mortier glacé où il est soigneusement broyé, ou encore broyé au hachoir de LATAPIE qui présente l'avantage de retenir les débris conjonctifs. Après une pesée rapide on fait passer la purée dans un homogénéiseur de PORTER en plexiglass, glacé, avec 2 cm³ par gramme de tissu frais de saccharose froid 0,88 M (30 %). L'homogénéisation est soigneusement menée à 0° pendant 3 minutes. Le premier homogénat est ensuite dilué pour obtenir une solution finale de 1 gramme pour 10 cm³ qui est à nouveau homogénéisée puis transvasée dans des tubes de centrifugeuse froids, et soumise à une centrifugation de 2 heures à 42000 gravités à 0°.

On obtient trois fractions : les lipides libres qui forment une couche crémeuse assez difficile à recueillir dans les foies « normaux » et forment une couche épaisse, solide dans les foies gras.

Le hyaloplasme dispersé dans le saccharose : S₁.

Un culot contenant la totalité des structures que nous pouvons sédimenter.

Les lipides recueillis, le hyaloplasme est soigneusement décanté par aspiration.

Ces deux fractions sont mises de côté pour analyse.

Le culot est remis en suspension et homogénéisé dans 10 cm³ de saccharose à 30 % par gramme de tissu et cette suspension sera soumise à la centrifugation différentielle.

1°) Une centrifugation de 30 minutes à 600 G. livre les noyaux sédimentés et un surnageant S₂ contenant les mitochondries et les microsomes.

Le culot est lavé alors deux fois par remise en suspension et homogénéisation suivie d'une centrifugation de 30 minutes à 600 G. Les surnageants sont réunis à S_2 .

Les noyaux séparés sont examinés. S'il reste du conjonctif, ils sont filtrés à travers une gaze. Nous n'avons pas trouvé une grande amélioration par addition d'acide citrique au dernier milieu de lavage.

2°) Les surnageants réunis à S_2 sont centrifugés 20 minutes à 24.000 G. On obtient un culot constitué par la totalité des mitochondries souillées de microsomes et un surnageant S_3 contenant les microsomes. Les mitochondries sont lavées deux fois dans les mêmes conditions ; les eaux de lavages sont réunies à S_3 .

3°) Une centrifugation de S_3 pendant deux heures à 42.000 G. livre la fraction des petites structures susceptibles d'être sédimentées dans ces conditions. Le surnageant S_4 est réuni au hyaloplasme.

Avant toute extraction des lipides les structures sédimentées : noyaux, mitochondries, microsomes sont lavées au chlorure de sodium à 1 % destiné à éliminer la grande quantité de saccharose qui imprègne les culots et gêne l'extraction.

Les noyaux sont lavés	10 minutes à 600 G.
Les mitochondries	10 minutes à 24000 G.
Les microsomes	60 minutes à 42000 G.

Chacune des fractions séparées est soumise à une extraction des lipides.

2°) Méthode d'extraction des lipides totaux.

Une partie aliquote de tissu total frais est placée dans une nacelle de Kumagawa et extraite pendant 6 heures à l'alcool à 95° suivant la technique classique.

Traitement des culots.

Les structures séparées peuvent être traitées par la méthode de KUMAGAWA SUTO comme le tissu entier, soit par une méthode d'extraction à froid. Nous avons choisi la méthode de BLOOR à l'éther-alcool [22].

En fait aucune méthode d'extraction n'est parfaite, toutes extraient incomplètement les lipides et entraînent des impuretés non lipidiques MACHEBOEUF [165]. La technique de Bloor est suffisamment connue pour qu'il soit inutile d'en vanter les qualités, nous l'appliquerons comme il suit.

Les culots de centrifugation sont repris à l'alcool bouillant puis centrifugés à 3000 tours minutes. Le surnageant est décanté et recueilli et les culots lavés trois fois à l'éther-alcool (1 V./3 V.) en étant soigneusement remis en suspension et centrifugés 20 minutes chaque fois à 3000 T/M.

Les liquides de lavage sont réunis au premier extrait. Les culots séchés sous vide phosphorique, sont conservés pour doser l'azote protéique.

Les extraits sont séchés sous vide partiel à basse température et repris dans un minimum d'éther anhydre. Ils sont prêts pour la séparation des phospholipides.

Traitement des surnageants.

Le hyaloplasme dispersé dans le saccharose auquel a été réuni le surnageant des microsomes S_3 peut être traité de deux façons. Une difficulté supplémentaire est apportée par la grande dispersion dans le saccharose.

Une première méthode consiste à placer le liquide dans des tubes de cellophane et à dialyser 48 heures contre eau courante ; ce procédé élimine la totalité du saccharose mais disperse la matière dans une très grande quantité d'eau. Le liquide est ensuite précipité par deux fois son volume d'alcool bouillant maintenu à ébullition 15 minutes en ajoutant 1 volume d'éther, filtré sous vide et le filtre rincé à l'éther.

La seconde méthode précipite le liquide brut avec le saccharose par l'alcool chaud comme il est décrit plus haut, une grande quantité de sucre est entraînée, on évapore à basse température et à basse pression jusqu'à presque siccité ; l'extrait a alors l'aspect d'un sirop, il est repris par le mélange suivant :

Eau	2V.
Ether	3V.
Acétone	3V.
ClNa 18 %	1V.

en opérant comme il suit. Dissoudre dans l'eau et l'éther en agitant, il se produit une émulsion que l'on casse en ajoutant le ClNa et l'acétone. On décante et on recueille la phase étherée ; la phase hydroacétonique est lavée plusieurs fois à l'éther et les fractions étherées réunies. On obtient la plus grande partie des lipides, avec un bon rendement pour les phospholipides. Les pertes sont du même ordre qu'avec la dialyse (chiffre obtenu par saponification directe d'une partie aliquote). Nous avons le plus souvent préféré la seconde méthode plus rapide. Le gâteau de filtration est séché et conservé pour le dosage de l'azote. L'extrait lipidique brut est préparé pour la séparation des phospholipides.

Extraction de la phase lipide libre.

Elle est constituée de lipides purs qui se mettent facilement en solution dans le mélange éther-alcool chaud. Il est à noter cependant que dans le cas des foies gras provoqués par intoxication il se produit un entraînement assez important de protéines qui restent en résidu fibreux sur le filtre après extraction. Le résidu séché a été réuni aux protéines du hyaloplasme.

3°) Séparation des divers constituants lipidiques.

Séparation des phospholipides.

Nous n'avons pas tenté la séparation des phospholipides par chromatographie sur colonne, mais nous avons repris la méthode de précipitation à l'acétone en présence de Cl_2Mg qui, fait en suivant la technique de LE BRETON et CLÉMENT J. [143] donne de très bons résultats,

Les extraits lipidiques totaux bien secs, et ceci est très important, sont repris à l'éther anhydre, concentrés à un volume donné plus petit que 10, et précipités par 10 volumes d'acétone glacée, contenant quelques gouttes de Cl_2Mg à saturation dans l'alcool absolu, placé à 0° pendant 6 heures, centrifugés à 3.600 T/M pendant 10 minutes. L'acétone est décantée, évaporée, et le résidu soumis à une seconde précipitation dans les mêmes conditions. Le précipité de phospholipides est remis en solution et reprécipité d'une façon identique. Les phospholipides précipités sont réunis et saponifiés par un volume suffisant de potasse alcoolique 2N fraîchement préparée (10 cm^3 dans nos conditions) 2 heures à ébullition.

Après acidification à l'HCl 1/3, les acides gras sont extraits trois fois à l'éther. Les phases étherées sont ensuite lavées à l'eau distillée puis évaporées à sec en s'aidant du vide et d'alcool absolu.

Séparation des glycérides et de l'insaponifiable.

Nous utilisons la méthode de LEMELAND [146, 147].

Les liquides acétoniques recueillis, une partie aliquote est prélevée pour dosage du cholestérol libre. Le reste est évaporé, on ajoute 25 cm^3 de KOH 2N au résidu sec et on fait bouillir à reflux 2 heures.

On introduit ensuite dans le ballon 40 cm^3 d'HCl N, 26,2 cm^3 d'alcool à 95° , 8,8 cm^3 d' H_2O Dist. On a ainsi un total de 100 cm^3 d'alcool à 50° , d'alcalinité N/10, le milieu est celui préconisé par HONIG et SPRIZ (adapté par KUMAGAWA SUTO) pour séparer l'insaponifiable total. On extrait le liquide alcalin 4 fois par l'éther de pétrole (type chemin de fer) les savons restent dans l'eau, la solution étherée, lavée à l'eau est évaporée à sec, le résidu pesé. Pour obtenir les acides gras on recueille la solution de savons, on chauffe pour chasser l'alcool. La solution de savons est transvasée dans une ampoule à décantation et acidifiée par HCl 1/3 et extraite 3 fois à l'éther sulfurique, les extraits étherés sont réunis, lavés à l'eau distillée puis évaporés et séchés, enfin pesés.

Le dosage du cholestérol total est fait sur une partie aliquote par la méthode de LIBERMANN, la lecture de la coloration verte est faite au photomètre par comparaison avec une courbe standard.

Le dosage du cholestérol libre est fait par la méthode de CAMINADE [37] de précipitation à la digitonine.

Séparation sur colonne des groupes de lipides.

La méthode d'analyse exposée ci-dessus ne permet pas d'avoir une idée précise de l'importance relative des glycérides et des esters du cholestérol. Il est intéressant pour nous de séparer ce dernier groupe de lipides pour en analyser les acides gras. Après avoir essayé les méthodes de BORSTRÖM [26] et de LOUEDEC [161] nous avons adopté une méthode décrite par MARINETTI [168]. Elle permet une séparation, sur colonne, des triglycérides, des esters du cholestérol, des acides gras et du cholestérol libre, et des phospholipides.

Une colonne de 1 cm de diamètre surmontée d'un réservoir est remplie de 3 g de silice (MERCK pour chromatographie) activée par un séjour de 16 heures à l'étude à 100° , lavée à l'éther de pétrole. Le mélange lipidique brut (environ 30 mg) dissous dans 5 cm^3 d'éther de

pétrole est placé sur la colonne. Les lipides sont alors fractionnés par les solvants de polarité croissante, ajoutés par fractions de 50 cm³.

1. éther de pétrole hydrocarbures à polaires.
2. 1 % d'éther dans l'éther de pétrole. esters du cholestérol.
3. 3 % d'éther dans l'éther de pétrole. triglycérides.
4. 10 % d'éther dans l'éther de pétrole. acides gras + cholestérol.
5. 50 % d'éther dans l'éther de pétrole. triglycérides + phospholipides.
6. Méthanol pur phospholipides.

Les liquides s'écoulent librement à travers la colonne sans aspiration ni compression.

Les différentes fractions obtenues ne sont pas rigoureusement pures, exemptes des autres fractions séparables. En particulier les triglycérides de la fraction 3 contiennent des esters du cholestérol, mais cette catégorie est suffisamment pure. Les pertes de matières sur la colonne sont de l'ordre de 5 à 6 %.

Seuls les foies gras obtenus après addition de cholestérol au régime nous ont permis de réunir suffisamment d'esters pour analyser les acides gras. Nous avons essayé d'établir par cette méthode un pourcentage des différents composants du mélange des lipides biologiques. Mais les résultats que nous avons obtenus ne sont pas satisfaisants. Il semble que la méthode ne soit pas quantitative ; les pertes ne sont pas du même ordre suivant les composés.

4°) Analyse qualitative des acides gras.

Les indices d'iode.

Ils sont déterminés par la méthode de WIJS selon la modification microanalytique de EW. BLANCK. On pèse avec précision dans une fiole de 25 cm³ bouchée à l'émeri, 10 à 20 mg d'acide gras, on chauffe jusqu'à dissolution complète dans 1 cm³ de chloroforme, on ajoute 2 cm³ de réactif de WIJS, le flacon est bouché et abandonné 1/2 heure à l'obscurité. On ajoute alors 5 cm³ d'iodure de potassium à 2 % et on titre avec une solution de thiosulfate de sodium N/50 en présence d'empois d'amidon. L'indice d'iode est calculé par la formule habituelle rapporté à un témoin N.

$$(N-n) 0,00254 \times 100$$

P

Chromatographie sur papier.

Pour essayer d'identifier les différents acides gras, notre choix s'est porté sur cette méthode bien qu'elle ne soit pas encore au point et qu'elle présente des inconvénients difficiles à surmonter. Nous disposons de très petites quantités d'un matériel difficilement stockable (acides insaturés). L'ensemble des méthodes décrites ci-dessus, appliqué à 10 grammes de purée hépatique, conduit à environ 20 mg de mélange d'acides gras correspondant à la fraction microsome. Les méthodes de distillation fractionnée ou de cristallisation à basse température ou encore les méthodes à contre-courant étaient inapplicables ; Une microchromatographie sur colonne ou une chromatographie sur papier étaient possibles, la chromatographie sur papier présentait l'avantage de la rapidité et de la simplicité, avantage important car chaque série d'animaux représente 10 mélanges à analyser.

Nous avons pour point de départ une méthode de chromatographie sur papier paraffiné mise au point au laboratoire en 1954 [40].

Il s'agit d'une méthode dite en phase inversée où la phase fixe est la paraffine et la phase mobile un alcool.

Nous l'avons modifiée en remplaçant l'alcool par l'acide acétique glacial.

La technique est la suivante :

Les feuilles de papier Whatmann n° 1 ou n° 4, sont imprégnées en les passant rapidement dans un mélange benzène-paraffine à 15 % (P/V) puis suspendues verticalement pour sécher.

Le mélange d'acides gras, en solution à 1 % dans l'éther ou le benzène, est déposé en gouttes de 1 ou 2 centièmes de centimètre cube au bas de la feuille (repéré par rapport au sens du séchage). Le chromatogramme est développé par la méthode ascendante à 25-26° pendant 15 heures, dans une cuve cylindrique saturée en vapeurs d'acide acétique.

Les acides séparés sont révélés par leurs savons d'argent. Après séchage à la température du laboratoire, les feuilles dégagent encore une forte odeur acétique, sont immergées dans l'eau distillée ; une partie de la paraffine surnage, l'eau est éliminée et remplacée par la plus petite quantité possible de nitrate d'argent ammoniacal à 1 % qu'on laisse en contact pendant 15 minutes. La feuille est alors abondamment lavée par bains successifs dans l'eau distillée ; à la dernière eau on ajoute quelques centimètres cubes de sulfure d'ammonium. Les taches apparaissent en brun plus ou moins foncé sur fond clair. Les acides purs et en mélange se séparent bien à condition que les acides insaturés soient séparés. Les références sont les suivantes :

Acide stéarique	0,50 à 0,57
Acide palmitique	0,60 à 0,66
Acide myristique	0,66 à 0,74
Acide laurique	0,78 à 0,82
Acide oléique	0,61 à 0,65
Acide linoléique	0,73 à 0,78.

On voit tout de suite qu'il est impossible de séparer par cette méthode les acides palmitique et oléique ; d'autre part nous n'avons aucune certitude du Rf de l'acide linoléique. En effet nous avons eu la surprise en chromatographiant un acide oléique et un acide linoléique qui nous avaient été donnés comme purs sous forme de linoléate et d'oléate d'éthyle ; d'observer deux spots pour l'acide oléique et trois pour l'acide linoléique. Il était possible, pour l'acide oléique de déterminer la tache lui correspondant, l'autre ayant l'aspect d'un halo léger ; cela était plus difficile pour l'acide linoléique car deux taches avaient la même intensité ; en ajoutant de l'acide oléique à la tache initiale, nous avons renforcé l'une d'entre elles et il n'y avait alors que deux taches dont les Rf sont ceux indiqués ci-dessus pour l'acide oléique et l'acide linoléique. Mais il est évident qu'on ne peut être très affirmatif en ce qui les concerne. Nous n'avons pas eu entre les mains d'autre acide insaturé. On peut voir également que les Rf varient beaucoup d'un chromatogramme à l'autre, nous donnons les chiffres extrêmes obtenus avec les acides purs. Les variations sont plus

importantes avec les mélanges biologiques où il intervient une question de proportion, l'acide qui est en quantité la plus importante, entraîne ou retient les autres, dont le Rf se trouve modifié. Les variations sont dues à l'imprégnation qu'il est difficile de réaliser d'une façon toujours identique. SPITERI [208] a essayé de diminuer cet effet en imprégnant les feuilles de papier par capillarité à la manière d'une chromatographie ascendante, les feuilles étant ensuite développées dans le sens de l'imprégnation. Nous avons essayé sans grand résultat ; lors d'imprégnations menées simultanément le solvant atteignait des hauteurs différentes, le gradient de concentration de la paraffine sur le papier n'étant donc pas le même pour toutes les feuilles. Nous avons limité les variations en pesant les feuilles après imprégnation et en ne conservant que celles de poids voisin.

Si on a la précaution de placer sur chaque chromatographie un acide témoin l'identification est possible pour les acides saturés mais reste problématique pour les acides insaturés, puisqu'une double liaison a le même effet sur la migration que la perte de deux carbones de la chaîne. Nous pensons qu'il serait préférable dans un cas comme celui là de définir les Rf par rapport à un acide témoin.

	Phosphatides		Glycerides	
	Ac. saturés	Ac. insaturés	Ac. saturés	Ac. insaturés
GL		0,96		0,92
	0,72	0,79		0,75
	0,63	0,64	0,64	0,66
			0,54	
C		0,95		0,97
	0,70	0,79	0,72	0,86
	0,61	0,65	0,63	0,76
MC		0,95		0,95
	0,68	0,79	0,78	0,82
	0,59	0,64	0,64	0,74
			0,54	0,63
MT		0,95		0,95
	0,69	0,80	0,65	0,78
	0,59	0,65	0,61	0,65

Nous donnerons ici à titre d'exemple l'identification des acides séparés à partir des lipides d'animaux témoins (Tableau I). (GL = graisses libres ; C = cytoplasme ; MC = microsomes ; MT = mito-

chondries ; nous n'avons pas obtenu de taches identifiables à partir des lipides des noyaux).

1. LES PHOSPHOLIPIDES.

Les acides saturés sont pour toutes les structures cellulaires : les acides myristique et palmitique, l'acide palmitique étant en beaucoup plus grande quantité.

On peut identifier pour acides insaturés : les acides oléique et linoléique. La tache de Rf 0,95 peut être identifiée soit comme un acide très insaturé à plus de deux doubles liaisons, soit encore et nous penchons pour cette interprétation, comme un acide dégradé.

2. LES GLYCÉRIDES.

Les microsomes contiennent en plus des acides palmitique et myristique de l'acide stéarique, et les graisses libres contiennent de l'acide stéarique et de l'acide palmitique.

Les acides insaturés sont l'acide oléique et l'acide linoléique sur les mitochondries, les microsomes et les graisses libres ; le cytoplasme semble dépourvu d'acide oléique, en revanche il contient avec les microsomes un acide de Rf 0,86 que nous ne pouvons identifier. Ces résultats demandent une discussion. En effet l'acide stéarique a été signalé comme composant des phosphatides du foie par de nombreux auteurs : HILDITCH, ARMSTRONG et ALLAN, COLIN et Coll. [121, 4], presque à égalité avec l'acide palmitique ; ici il ne peut en être question mais il est possible qu'il soit présent en quantité assez faible, si bien qu'il se trouve masqué dans la plupart des cas et qu'il n'apparaît que lorsque les proportions du mélange le lui permettent, il en serait ainsi dans les lipides des microsomes et des graisses libres.

Ce travail est en quelque sorte un essai préalable, la précision de la méthode, tout à fait relative, ne permettant pas d'être très affirmatif. Nous pensons que des précisions seront apportées dans ce domaine par les méthodes de chromatographies en phase gazeuse, qui sans nécessiter trop de matière première sont beaucoup plus rigoureuses.

Séparation des acides gras saturés et insaturés.

Nous avons employé la méthode aux sels de plomb, introduite par GUSSEROW en 1828 [106], et modifiée par VARENTRAPP puis TWITCHELL [220].

Les acides gras sont dissous dans 5 cm³ d'alcool à 95° bouillant, une quantité légèrement supérieure d'acétate de plomb est également dissoute dans l'alcool à 95° bouillant de façon à obtenir un volume de 25 cm³ en mélangeant les deux solutions, qui sont ensuite abandonnées une nuit. Les savons de plomb des acides saturés insolubles sont séparés par centrifugation, la solution alcoolique contenant les sels solubles est décantée et le précipité lavé à l'alcool jusqu'à ce que une goutte d'eau distillée ne trouble pas les solutions de lavage qui sont réunies au surnageant.

On peut ajouter 1 % d'acide acétique glacial à la solution initiale pour faciliter la séparation de l'acide oléique.

Les sels insolubles sont transvasés dans une capsule de porcelaine à l'aide de petites fractions, alternativement, d'acide chlorhydrique et d'eau bouillante. On complète avec une petite quantité d'acide chlorhydrique à 50 % et on chauffe jusqu'à l'apparition des acides en gouttelettes à la surface. Cette opération est assez délicate lorsque les acides gras sont en très petite quantité, il faut mener le chauffage avec précaution. Après refroidissement la solution est transvasée dans une ampoule à décantation et extraite plusieurs fois à l'éther.

L'éther recueilli et lavé à l'eau distillée pour éliminer les sels et l'acide chlorhydrique, est séchée sous vide.

La solution des sels solubles est évaporée sous vide, le résidu sec remis en solution dans l'éther est lavé à l'eau légèrement acétifiée, ce qui suffit à décomposer des sels de plomb et libérer les acides gras. L'éther après lavage est évaporé sous vide et les acides gras utilisés immédiatement ou conservés sous vide.

Cette séparation est possible sur 50 à 100 mg d'acide gras. Les acides concrets séparés sont dépourvus d'acides insaturés comme on peut s'en rendre compte par un indice d'iode et une chromatographie où il n'apparaît pas de taches brunes avec le permanganate de potassium, ce qui est spécifique des acides insaturés.

5°) Dosage de l'azote protéique.

L'azote protéique est dosé par la méthode de KJELDAHL sur les résidus secs délipidés du tissu total et des différentes fractions cellulaires.

La minéralisation est menée dans l'acide sulfurique aidé de perhydrol (Merck).

DEUXIÈME PARTIE.

RÉSULTATS.

Nous présenterons les résultats en trois parties :

1^{re} partie : les animaux intoxiqués
par injections
par inhalation, dose aiguë
par inhalation prolongée.

2^e partie : les animaux à foies gras par régime additionné de cholestérol : RÉGIME I.

3^e partie : les animaux dont le foie gras est obtenu par rupture de l'équilibre protéines/lipides/choline. RÉGIME II.

Puisque nous cherchons à étudier l'évolution de l'engraissement du foie, nous présenterons les résultats en plaçant les lots d'animaux dans un ordre chronologique.

En ce qui concerne les animaux mis au régime, il s'est passé deux mois entre le sacrifice du premier et du dernier lot.

L'intervalle entre deux lots est d'une dizaine de jours.

Les animaux ont été soumis au traitement pendant des temps différents que nous exprimerons en heures ou en jours et qui seront toujours indiqués.

Nous exposerons en premier lieu les résultats histologiques. Ils donnent une vue d'ensemble sur l'état du foie, et représentent l'aspect anatomique des recherches. Les résultats biochimiques seront présentés à la suite, ils représentent le point de vue analytique. Nous les avons classés en tableaux où chaque structure cellulaire isolée est représentée symboliquement par des lettres.

Par *FT* nous désignons l'homogénat total. *GL* représente les graisses libres que notre technique de centrifugation permet d'isoler et qui représentent les gouttelettes soudanophiles du cytoplasme. *C* représente le cytoplasme homogène, c'est-à-dire le hyaloplasme contenant encore les petits microsomes qui ne peuvent sédimenter à la vitesse maximum de nos centrifugeurs. *MC* représente les microsomes,

c'est ainsi que CLAUDE a appelé les petites structures sédimentant à des vitesses supérieures à 25.000 gravités, nous les nommons ainsi sans discuter la composition et la provenance des particules isolées. *MT* désigne les mitochondries et *N* les noyaux.

1. — INTOXICATIONS.

Résultats histochimiques.

Les observations au microscope optique et les méthodes d'intoxication permettent de classer les animaux en deux groupes. Les premiers recevant une dose aiguë, en trois jours, en 24 et 48 heures. Les seconds recevant une dose faible et prolongée. Le premier groupe donne des images d'intoxication aiguë caractéristiques, telles qu'elles ont été décrites par les anciens auteurs et plus récemment par Ch. ROUILLER [186].

Après 24 heures nous observons une congestion de la veine centro-lobulaire et des capillaires. Une nécrose centro-lobulaire très marquée avec une forte réaction réticulaire et macrophagique. Les cellules hydropiques avec leur aspect en ballon sont dans une zone intermédiaire entre la zone nécrotique et une zone moyenne du lobule hépatique où on observe une surcharge lipidique. Les noyaux sont petits, rétractés, hyperchromatiques, ou gros et plurinucléolés, avec de grosses mottes de chromatine.

Autours des espaces portes les amitoses et les mitoses sont très nombreuses.

Il y a une raréfaction des mitochondries dans la région centro-lobulaire.

Le glycogène est peu abondant et ne persiste que dans les régions où les cellules paraissent normales. La réaction des estérases (aliestérases) est inégale, clairsemée et généralement pâle. Dans les cellules où elle persiste elle entoure les vacuoles lipidiques.

La coloration de BRACHET révèle une certaine pauvreté des noyaux en acide désoxyribonucléique ; les nucléoles sont volumineux et très rouges, on peut dire qu'ils sont riches en acide ribonucléique. Dans le cytoplasme la basophilie a diminué, elle apparaît sous forme de petites mottes autour des vacuoles lipidiques. Si l'intoxication continue dans les mêmes conditions, on observe une nécrose plus importante avec réticulose très marquée, moins de cellules ballonisées et une surcharge lipidique qui s'étend jusqu'aux espaces portes. L'effort de régénération à partir de ces derniers est plus caractérisé, on observe quelques coulées de cellules conjonctives. La réaction du glycogène et des estérases diminue en même temps que le nombre des cellules à aspect normal.

L'étude du deuxième groupe d'animaux montre trois stades dans l'évolution de la surcharge.

1°) Une surcharge caractérisée par de fines et multiples vacuoles lipidiques qui entourent le noyau en collerette avec une localisation centro-lobulaire, et un aspect normal du reste du lobule.

2°) Une augmentation de la taille des vacuoles avec une surcharge notable répartie avec régularité dans toutes les cellules hépatiques sous forme de multiples vacuoles. Cette surcharge atteint souvent la dégénérescence, avec des cellules où le noyau est refoulé contracté, pycnotique, ou même complètement disparu, transformant la cellule en une cellule adipeuse.

Les mitoses et amitoses sont très nombreuses autour des espaces portes. Il existe dans la région centro-lobulaire et dans les espaces portes une très importante infiltration réticulaire, les infiltrats forment des coulées qui entourent les lobules, avec de très nombreux noyaux hyperchromatiques. Il subsiste quelques cellules hydropiques dans la région centrolobulaire. Le glycogène a pratiquement disparu, la réaction des estérases existe mais elle est très pâle, toujours située à la périphérie du lobule et en grains autour des vacuoles.

Les noyaux ont une réaction normale au vert de méthyle, les nucléoles sont toujours très rouges, le cytoplasme, bien que dégénéré conserve sa basophilie autour des vacuoles.

3°) Stade où la dégénérescence graisseuse est encore plus marquée et plus étendue. Il y a un nombre plus élevé de cellules en ballon, une nécrose centro-lobulaire. La réticulose est plus accentuée, représentée par des histiocytes et des macrophages et souvent de nombreux éosinophiles. Quelques plasmods sont observés au niveau de l'infiltration.

Les noyaux sont de tailles variées, plurinucléolés, rétractés. Ils restent centraux dans les cellules les moins touchées. Il existe cependant quelques cellules intactes ou qui le semblent, avec leur matériel enzymatique conservé.

Il existe une hyperplasie des cellules de KUPFFER.

Dans les travées cytoplasmiques qui restent autour des vacuoles ou contre les membranes cellulaires, la réaction des estérases existe, avec quelques grains PAS positifs et également une réaction positive à la pyronine.

Le chondriome est très inégalement réparti. Les cellules où il est mis en évidence sont généralement groupées en îlots dans la zone moyenne des lobules. Dans un certain nombre de cellules les chondriosomes ne sont représentés que par quelques mitochondries clair-semées et gonflées, réparties dans les travées cytoplasmiques. Enfin il a disparu dans beaucoup d'éléments.

Résultats biochimiques.

Nous ne saurions trop insister sur l'importance du mode d'expression des résultats.

Dans l'ensemble de tous les travaux, ils sont exprimés en pourcentage du poids frais.

On voit alors que chez les animaux normaux les phospholipides ont un taux constant ainsi que l'insaponifiable, les glycérides forment l'élément variable.

Mais lors de l'accumulation anormale de lipides, on a une représentation inexacte des faits. Il est préférable alors d'exprimer les résul-

tats en rapportant la quantité de chaque constituant au poids sec délipidé, ou mieux encore à la quantité de protéines [55]. C'est à ce dernier mode d'expression que nous nous sommes arrêtés. Nous avons établi un bilan de l'azote et nous avons ensuite rapporté chaque constituant exprimé en milligramme d'acide gras à 1 milligramme d'azote. Il est évalué ainsi une concentration de l'élément au niveau des organites cellulaires et du tissu entier. Les résultats sont placés sous forme de tableaux, ils expriment :

Tableau I. — Le bilan des phospholipides, glycérides et esters du cholestérol ; de l'insaponifiable et de l'azote protéique en milligramme par gramme de tissu frais.

Tableau II. — Le bilan des phospholipides, glycéride et esters du cholestérol, et de l'insaponifiable rapporté à un milligramme d'azote.

Tableau III. — Le cholestérol libre et estérifié des lipides libres.

Tableau IV. — Les indices d'iode des acides gras, séparés ou isolés des différentes structures.

Tableau V. — Les Rf des différents acides gras, séparés en acides saturés et acides insaturés.

Chaque traitement sera représenté par une lettre :

A : intoxication par injection ;

B : intoxication par inhalation dose aiguë ;

C : intoxication par inhalation dose prolongée.

Dans chaque tableau les animaux sont symbolisés par un numéro, qui représente une moyenne de 60 g de foie frais.

N° 1.....	12 h.....	0,5 g/heure
N° 2.....	24 h.....	0,5 g/heure
N° 3.....	36 h.....	0,5 g/heure
N° 4.....	48 h.....	0,5 g/heure
N° 5.....	60 h.....	0,5 g/heure
N° 6.....	72 h.....	0,5 g/heure
N° 7.....	48 h.....	0,5 g/heure
N° 8.....	48 h.....	0,68 g/heure
N° 9.....	48 h.....	0,75 g/heure
N° 10.....	3 j.....	0,2 cm ³ /jour
N° 11.....	3 j.....	0,4 cm ³ /jour
N° 12.....	6 j.....	0,2 cm ³ /jour

Nous devons rappeler que le cytoplasme contient encore une partie des microsomes, nos centrifugeurs ne tournant pas à la vitesse suffisante pour les sédimenter en totalité.

Séries	Phospholipides			Glycérides			Insaponifiable			Azote		
	10	11	12	10	11	12	10	11	12	10	11	12
FT		17,7	20,6	41,2	109	126,7	6,8	6,2	7,5	26,6	23,7	18,7
GL	1,28	3,1	0,54	31,6	84	79	2,4	2,4	3,1			
C	4,5	2,4	2,3	3,2	4,6	4,2	1,1	2,2	2,8	12,5	10,8	10,2
MC	2,9	2,8	2,4	2,9	3,1	3,6	0,6	0,7	0,3	3,2	3,5	1,9
MT	5,4	4,6	1,72	2,5	2,8	3,2	1,0	1,8	0,5	5,9	4,5	4
N	0,12	0,11	0,09	0,28	0,31	0,30	0,20	0,30	0,25	1	0,9	0,7

TABLEAU I A.

Séries	Phospholipides			Glycérides			Insaponifiable		
	10	11	12	10	11	12	10	11	12
FT		0,75	1,1	1,54	4,59	6,77	0,25	0,26	0,40
C	0,36	0,22	0,21	0,25	0,42	0,41	0,20	0,22	0,28
MC	0,90	0,80	1,26	0,90	0,88	1,89	0,21	0,20	0,21
MT	0,91	1,02	0,43	0,42	0,62	0,80	0,16	0,40	0,12
N	0,12	0,12	0,12	0,28	0,34	0,42	0,2	0,32	0,35

TABLEAU II A.

Séries	Phospholipides		Glycérides	
	11	12	11	12
GL	71,9	89	154	116
C	83,8	142	119	67
MC	165	130	118	131
MT	81	103	131	85
N	80	78	55	48

TABLEAU IV A.

Séries	9	10	11	12
Cholestérol libre	0,90	0,80	0,62	1,3
Cholestérol estérifié	0,20	0,70	1,62	1,4

TABLEAU III B.

Séries	Phospholipides			Glycérides			Insaponifiable			Azote		
	7	8	9	7	8	9	7	8	9	7	8	9
FT	15,1	16,3	14,8	79,6	112,5	88,5	7,4	8,5	8,8	18,7	21,2	20,2
GL	1,58	1,5	2	59,6	90	75,2	3	3,1	3,6			
C	3,2	3,3	3,7	4,7	4,1	3,1	2,8	2,8	3,4	7,8	10,5	11,3
MC	1,6	1,2	1,9	1,58	1,9	5	0,66	0,33	0,4	1,3	1,5	1,9
MT	2,7	2,9	4,7	2,69	3,2	6,7	1,1	1	0,7	1,6	1,9	2,5
N	0,08	0,09	0,14	0,22	0,15	0,03	0,2	0,3	0,45	1,4	1,1	1,2

TABLEAU I B.

Séries	Phospholipides			Glycerides			Insaponifiable		
	7	8	9	7	8	9	7	8	9
FT	0,82	0,76	0,73	4,25	5,30	4,38	0,39	0,40	0,43
C	0,41	0,31	0,32	0,61	0,38	0,27	0,36	0,26	0,30
MC	1,23	0,81	1	1,21	1,25	2,63	0,50	0,22	0,21
MT	1,68	1,52	1,88	1,68	1,68	2,68	0,68	0,57	0,28
N	0,06	0,08	0,11	0,16	0,13	0,02	0,14	0,27	0,37

TABLEAU II B.

Séries	Phospholipides						Glycérides						Azote					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
FT	19,2	17,5	15,6	15,1	14,8	14,2	39,2	82,6	130,2	79,6	114,2	152,3	26,8	20,6	17,7	18,7	20,3	19,9
GL	1,28	2,5	2,2	1,58	1,4	2,8	29,2	71,1	110,3	59,6	93,2	140,4						
C	6,4	5,8	5,3	3,2	4,9	2,8	3,2	5,25	4,32	4,7	6,3	2,6	14,7	12,9	10,6	7,8	12	11,1
MC	3,1	2,5	1,58	1,6	1,41	2,25	2,9	1,1	1,1	1,58	1,72	3,65	3,2	3,2	1,3	1,3	1,3	1,5
MT	5,4	3,15	2,69	2,7	1,56	2,87	2,5	3,8	4,4	2,69	2,88	3,2	6,7	5,1	2,5	1,6	2,6	2
N	0,1	0,2	0,3	0,08	0,3	0,09	0,3	0,4	0,15	0,22	0,24	0,21	1,3	1,2	1,4	1,4	1,1	1,3

TABLEAU I C.

Séries	Phospholipides						Glycérides						Insaponifiable		
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	4	5	6
FT	0,71	0,84	0,88	0,80	0,72	0,71	1,46	1,0	7,34	4,25	5,62	7,63	0,39	0,41	0,44
C	0,43	0,45	0,50	0,41	0,41	0,39	0,21	0,40	0,39	0,60	0,52	0,23	0,37	0,23	0,30
MC	0,97	0,77	1,15	1,2	1,0	1,5	0,90	0,34	0,84	1,21	1,32	1,74	0,50	0,25	0,26
MT	0,80	0,61	1,0	1,6	0,60	1,1	0,37	0,74	1,76	1,68	1,10	1,44	0,67	0,38	0,14
N	0,09	0,16	0,21	0,06	0,27	0,08	0,23	0,33	0,10	0,20	0,24	0,61	0,13	0,27	0,34

TABLEAU II C.

Répartition des constituants.

Animaux intoxiqués par injection.

La répartition de l'azote protéique présente un abaissement général d'autant plus marqué que la nécrose est plus accentuée. Le cytoplasme dispersé accuse une chute de 35 %, les microsomes de 67 %, les mitochondries de 15 % pour les cas extrêmes.

Les phospholipides ont diminué dans leur valeur absolue, mais leur concentration par rapport aux protéines a peu varié. Une partie plus importante est à l'état libre ; la quantité absolue contenue dans le cytoplasme a baissé alors que celle liée aux structures est sensiblement la même, mais la concentration a très nettement augmenté dans ces dernières. La dilution dans les protéines ne varie pas au niveau du cytoplasme.

L'augmentation des glycérides libres est considérable, avec peu de variation de l'insaponifiable et du cholestérol estérifié. La surcharge est uniquement glycéridique. L'observation des variations de concentration est la même que pour les phospholipides ; il y a concentration dans les structures et dilution dans le cytoplasme. La quantité d'acide gras liés aux protéines phospholipides (exprimée par le rapport des acides phosphatidiques aux acides gras totaux) diminue dans le tissu entier mais reste sensiblement le même dans les structures.

Animaux intoxiqués par inhalation.

Doses fortes : expérience B.

Les résultats sont comparables à ceux de l'expérience précédente. L'évolution de la stéatose se fait dans le même sens, l'apparition dans le foie d'une nécrose massive est reflétée par une diminution des lipides accumulés. Sur les animaux les structures sont plus grasses, leur dégénérescence est plus avancée.

Doses progressives : expérience C.

Il est intéressant de rapprocher les résultats biochimiques des observations microscopiques.

Dans les séries 1, 2, 3, il n'y a pas d'images de nécrose, peu ou pas de cellules en ballon, l'apparition de la nécrose est accompagnée d'une chute des graisses libres (série 4). La série 6 donne des images de dégénérescence avec d'énormes kystes gras. L'azote protéique diminue d'une façon continue de la série 1 à la série 6 ; chronologiquement l'abaissement apparaît dans le cytoplasme puis dans les microsomes, pour atteindre ensuite les mitochondries et s'y accentuer.

Les phosphatides sont en quantité plus importante dans les graisses libres, quantité d'autant plus grande qu'il y a plus de glycérides libres, il pourrait s'agir d'un entraînement physique. L'engraissement des structures est progressif, aussi bien en ce qui concerne les phosphatides que les glycérides. Cependant, il faut remarquer que la répartition des lipides entre les mitochondries et les microsomes et le cytoplasme est dans des proportions identiques à celles de l'animal normal. Le rapport entre acides phosphatidiques et acides totaux baisse régulièrement ; dans la série 6, cet abaissement est visible dans toutes les structures.

Nature des acides gras des divers structures.

Indice d'iode.

Il n'y a aucune différence entre les modes d'intoxication que celle-ci ait été lente, ou rapide. Il n'y a pas non plus de variation d'ordre chronologique. Les indices d'iode trouvés sont peu différents

	Phosphatides		Glycérides	
	Ac. saturés	Ac. insaturés	Ac. saturés	Ac. insaturés
GL		0,97		
	0,76	0,80	0,76	0,80
	0,68	0,75	0,68	0,76
C		0,97		0,97
	0,75	0,89	0,75	0,84
	0,68	0,76	0,68	0,73
MC		0,97		0,98
	0,74	0,87	0,72	0,89
	0,66	0,76	0,67	0,77
MT		0,97		0,97
	0,71	0,88	0,72	0,88
	0,60	0,80	0,63	0,78

TABLEAU V A.

des indices des animaux témoins. Cependant les glycérides et en particulier les glycérides des graisses libres ont un indice plus élevé. Au cours de l'accumulation il existe une tendance vers la désaturation. L'amplitude des variations n'est significative que dans les graisses libres ; les acides les plus insaturés sont toujours sur les microsomes, mais les phospholipides et les glycérides y sont comparables.

Rf des différents acides isolés.

Si nous considérons les acides isolés par chromatographie sur papier et caractérisés par leur Rf, nous voyons qu'il n'apparaît pas d'acides pathologiques au cours de l'intoxication, mais que la composition des glycérides se rapproche de celle des phospholipides.

On note la présence dans les phospholipides des acides saturés suivants : acide palmitique, acide myristique et sous forme de traces dans quelques structures de l'acide stéarique. Cette composition est identique à celle des animaux témoins.

Les acides insaturés sont toujours difficiles à identifier, si nous sommes certains de la présence de l'acide oléique, en très grande quantité, nous devons être moins affirmatif en ce qui concerne l'acide linoléique et il reste une tache non identifiée. Les mêmes acides sont présents dans les glycérides, mais les proportions sont différentes. Cette composition est la même pour toutes les structures. En fin de traitement, les images des chromatogrammes sont superposables, les proportions des acides ont changé, les acides palmitique et oléique se sont accumulés. Ces variations qui peuvent paraître de peu d'amplitude, ont néanmoins une action certaine sur la densité des lipides accumulés et sur leurs qualités physiques, ce qui a la plus grande importance pour le maintien de l'équilibre des forces à l'intérieur de la cellule et joue certainement un grand rôle dans l'évolution de la stéatose.

En résumé.

Pour tous les animaux et pour toutes les structures séparées.

Les noyaux.

Les techniques histologiques les montrent surtout modifiées lorsque l'intoxication a été brutale. Les résultats biochimiques ne montrent pas de variations significatives, mais seulement moins de constance dans les résultats ; ce qui peut être le signe d'une certaine dégénérescence de cette structure.

Les mitochondries.

Si elles ne sont pas les premières atteintes par le toxique, les mitochondries montrent dans les cas aigus un état de dégénérescence lipidique avancé, elles apparaissent gonflées, ont disparu dans la région centrolobulaire, et présentent une très forte augmentation de leur teneur en lipides, phospholipides et glycérides.

Les microsomes.

Ils présentent une atteinte antérieure à celle des mitochondries surtout marquée si l'intoxication a été brutale, et plus progressive si elle est prolongée. Cette atteinte rapide des microsomes est concomitante de l'aspect dit en motte du cytoplasme, et de la disparition de la basophilie.

Le hyaloplasme.

Il apparaît comme diminué dans son volume et sa matière, sans subir de modifications de ses lipides, son activité hydrolysante (estérases) est conservée dans les régions où il existe encore. Les lipides libres sont des glycérides plus insaturés que chez le rat normal.

L'accumulation des acides gras porte sur les acides palmitique et oléique, ce qui apparaît même sur les structures ; les glycérides accusent les variations les plus fortes, leur désaturation est très marquée, les phospholipides conservent mieux leur composition mais une certaine accumulation de l'acide palmitique apparaît.

2) RÉGIME I.

Résultats histologiques.

Tous les animaux, qui ont été sacrifiés entre le 7^e et le 8^e mois de régime, ont un aspect identique.

Les capillaires sont congestifs et très dilatés. Le cytoplasme est granuleux avec un aspect en motte, surtout marqué autours de la veine centrolobulaire. La vacuolisation est discrète. Les noyaux assez gros ronds, très chromatiques, sont plurinucléolés. Une coloration trichromique ne montre pas de développement conjonctif.

La répartition des mitochondries est normale. La coloration des lipides montre une surcharge périportale, en fines gouttelettes entourant le noyau en collerette, ou réparties dans tout le cytoplasme. Elles sont de tailles plus ou moins grosses, selon les cellules, mais ne confluent jamais en une vacuole unique. Les préparations sont P.A.S. positives, le glycogène est réparti en plaque, il est présent dans presque toutes les cellules. Les phosphatases alcalines sont négatives. Les estérases sont positives, leur répartition est normale. Le cytoplasme est très pyrinophile, il apparaît en grosses mottes rouge vif. Les noyaux ont de gros nucléoles rouges, la réaction au vert de méthyle est plus pâle, mais semble normale.

En résumé on peut dire que les noyaux sont peu touchés, le cytoplasme est granuleux, basophile, très riche en lipides et en glycogène, à activité enzymatique conservée.

Une remarque doit être faite en ce qui concerne l'influence du sexe des animaux. En effet l'ampleur de la stéatose que nous avons obtenue ici est très inférieure à celle obtenue sur des mâles par LE BRETON et

coll., à l'aide d'un régime identique. L'influence du sexe est très probable puisque selon ces auteurs une stéatose importante est obtenue après six mois de régime. Cependant on doit signaler que chez les animaux normaux la femelle a un foie moins gras que le mâle.

Résultats biochimiques.

Les tableaux sont présentés de la même façon que dans les séries d'expériences précédentes.

Le tableau I E, présentant le bilan des lipides et de l'azote en mg/g de tissu frais.

Le tableau II E, le bilan des lipides rapporté à 1 mg d'azote protéique.

Le tableau III E, le cholestérol libre et estérifié.

Le tableau IV E, les indices d'iode des différents acides gras.

Le tableau V E, les Rf des différents acides gras.

Nous rappelons que : F.T. = foie total

C. = cytoplasme

M.C. = microsomes

M.T. = mitochondries

N. = noyaux

que les n^{os} 1, 2, 3, 4, 5, sont des séries équivalentes représentant quatre foies, et qu'il s'est écoulé 1 mois et demi entre la série 1 et la série 5.

Séries	Phospholipides				Glycérides				Insaponifiable				Azote			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
FT	18,2	17,5	17,9	18,1	18,1	19,4	20,1	18,5	9,7	9,7	12,6	10,6				
GL	1,51	0,93	1,84	1,76	8,92	9,54	10,2	8,7	2,75	3,2	4,8	3,9				
C	7,50	7,0	8,33	7,51	5,45	3,81	5,68	6,20	2,3	2,5	2,8	3,2	15,9	16,22	14,8	15,4
MC	1,63	2,27	3,10	2,34	2,93	2,54	1,96	1,87	0,95	1,75	1,54	1,83	3,6	3,5	3,4	2,9
MT	2,45	3,66	3,26	2,74	1,41	1,72	1,35	2,05	0,93	0,96	1,12	1,37	4,72	5,55	5,2	4,8
N	0,13	0,32	0,12	0,27	0,60	0,35	0,26	0,37	0,65	0,50	0,38	0,25	1,63	0,81	1,32	1,23

TABLEAU I E.

Séries	Phospholipides				Glycérides				Insaponifiable			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
FT	0,71	0,65	0,70	0,71	0,71	0,76	0,79	0,73	0,38	0,36	0,49	0,42
C	0,17	0,43	0,56	0,48	0,56	0,58	0,68	0,56	0,14	0,15	0,19	0,20
MC	0,45	0,64	0,91	0,79	0,81	0,72	0,57	0,64	0,26	0,50	0,45	0,63
MT	0,52	0,66	0,62	0,57	0,30	0,30	0,25	0,42	0,19	0,17	0,21	0,28
N	0,08	0,40	0,09	0,22	0,37	0,43	0,20	0,30	0,40	0,64	0,28	0,20

TABLEAU II E.

Séries	Phospholipides		Glycérides	
	1	2	1	2
FT	114	91	81	70
GL	113	30	36	273
C	95	49	38	41
MC	112	130	80	91
MT	96	130	51	89
N	60	48	78	47

TABLEAU IV E.

Séries	1	2	3	4
Cholestérol libre	1,2	0,82	0,80	1,5
Cholestérol estérifié	0,5	0,62	1,1	1,1

TABLEAU III E.

Mis à part la durée du traitement (6 mois) et le sexe, les résultats sont comparables à ceux obtenus par LE BRETON et coll. avec un même régime, ingéré par les animaux pendant 1 an.

Les résultats qui paraissent différents exprimés en milligrammes par gramme de poids frais sont tout à fait semblables exprimés en milligrammes d'acides gras par milligramme d'azote protéique. Ceci montre l'importance du mode d'expression des résultats.

Répartition des divers constituants.

Répartition de l'azote.

L'azote ne présente une diminution que dans la fraction cytoplasmique, ceci peut s'expliquer par la présence de multiples vacuoles qui repoussent et éliminent les protéines cytoplasmiques.

Répartition des phospholipides.

Le rapport des phospholipides totaux aux protéines totales n'a pas varié. Cependant il y a une augmentation des phosphatides libres. Les phosphatides liés ont diminué et leur répartition a changé. Les microsomes se sont enrichis aux dépens du cytoplasme homogène. Il y a cependant une chute de la concentration au niveau des mitochondries.

Répartition des glycérides et autres lipides.

La surcharge comporte une accumulation de glycérides et esters du cholestérol. La répartition a été conservée entre les divers organites.

	Phosphatides		Glycerides	
	Ac. saturés	Ac. insaturés	Ac. saturés	Ac. insaturés
GL		0,96		0,96
		0,77	(0,72) 0,77	(0,83) 0,79
	0,65	0,68	(0,61) 0,67	(0,71) 0,70
	0,56		(0,51) 0,57	0,65
C		0,95		0,96
		0,76		0,74
	0,66	0,64	0,60	0,63
	0,56		0,50	
MC		0,95		0,93
		0,75	0,77	0,78
	0,53	0,59	0,66	0,71
	0,38			
MT		0,96		0,93
		0,83	0,75	0,76
	0,53	0,71	0,62	0,66
	0,41			0,55

TABLEAU V E.

Il y a une légère augmentation de la concentration sur les microsomes, mais la plus grande partie de ces lipides reste dans le cytoplasme. Le rapport des acides phosphatidiques aux acides totaux a baissé.

Nature des acides gras.

L'incide d'iode.

L'indice d'iode des phospholipides a baissé par rapport à celui des lipides du rat normal. Celui des glycérides et des esters du cholestérol baisse d'une façon plus significative ; cet indice va croissant des graisses libres au cytoplasme et aux microsomes qui représentent toujours la structure la plus insaturée.

Les Rf des différents acides gras.

Les acides gras isolés par chromatographie sur papier montrent qu'il y a eu au cours du traitement des variations dans la composition des lipides et en particulier des phosphatides. Les acides isolés sont l'acide stéarique et l'acide palmitique. L'acide myristique a disparu des chromatogrammes, mais on peut penser que étant présent dans le mélange en quantité la plus faible il se trouve masqué par les deux autres. Il apparaît un acide Rf 0,40 qui est peut-être un acide en C₂₀.

Les acides insaturés sont les acides oléique et linoléique sur toutes les structures excepté les mitochondries où les Rf des acides sont 0,71 et 0,83 ce qui correspond à l'acide linoléique et à un acide plus insaturé et moins lourd.

Les glycérides et les esters du cholestérol.

Dans les lipides libres nous avons pu séparer les glycérides et les esters du cholestérol par chromatographie sur colonne. Ceci nous a permis de voir que les acides insaturés qui entrent dans la composition de ces deux groupes de lipides sont les mêmes, acide stéarique et acides palmitique et myristique dans les proportions voisines. Les acides insaturés des esters du cholestérol sont les mêmes que ceux isolés à partir des phosphatides des mitochondries (linoléique et un acide plus insaturé ou moins lourd). Dans les glycérides on trouve en plus l'acide oléique et des taches pouvant être attribuées à l'acide hexadécanoïque. Les glycérides du cytoplasme sont les seules à contenir de l'acide stéarique. On ne trouve pas d'acide oléique dans les microsomes et les mitochondries possèdent un acide de Rf 0,55 non identifié.

En résumé.

Si nous envisageons chaque fraction cellulaire séparément :

Les noyaux semblent intacts.

Les autres structures sont peu modifiées ; les lipides en général se sont enrichis en acides saturés, surtout les lipides libres.

3. — RÉGIME II.

Résultats histochimiques.

Tous les animaux que nous avons observés, sacrifiés entre le 3^e et le 4^e mois de régime sont comparables.

La veine centrolobulaire est très dilatée, les capillaires sont congestifs. Le cytoplasme des cellules hépatiques est dense, granuleux, la vacuolisation est discrète et les modifications sont surtout marquées au niveau des noyaux. Ils sont hyperchromatiques, très basophiles, souvent plurinucléolés, ou petits et contractés.

La coloration trichromique de MASSON ne montre pas de développement du tissu conjonctif.

La coloration des lipides au Soudan III met en évidence une certaine surcharge également répartie à travers tout le lobule. Quelques travées de cellules sont dépourvues de lipides. Les enclaves sont tantôt fines et multiples, tantôt plus grandes remplissant le cytoplasme mais respectant toujours le noyau.

La réaction P.A.S. est très positive après fixation au formol comme après fixation à l'acétone, le glycogène est extrêmement abondant dans toutes les cellules, c'est une véritable polycoriglycogénique. La réaction des phosphatases alcalines selon GOMORI est complètement négative. La réaction des estérases non spécifiques persiste mais elle est un peu pâle, elle est surtout marquée dans la région centrolobulaire.

Nous devons faire remarquer qu'il existe ici une influence du sexe des animaux sur l'ampleur de la stéatose. Nous avons choisi des femelles parce qu'HARRISSON [119] signalait qu'elles formaient plus facilement des foies gras que les mâles. Dans les intoxications nous n'avons pas constaté de différence, mais nous avons été étonnés du peu d'ampleur de la stéatose après trois mois de ce régime hyperlipidique. Cette stéatose ne s'intensifia pas après cinq mois de régime. Or nous avons eu connaissance d'un travail récent de AUJARD et CHANY (1957) [13] où les auteurs signalent que les femelles ne forment pas de foies gras après ingestion d'un régime comparable au nôtre, alors que les mâles d'âge et de lignée identiques étaient porteurs d'une stéatose.

On note également dans la région centrolobulaire, une certaine raréfaction des mitochondries.

En résumé, les modifications sont surtout marquées au centre du lobule avec raréfaction des mitochondries et noyaux hyperchromatiques. La surcharge lipidique est moyenne, c'est la surcharge glycogénique qui est surtout remarquable ainsi qu'un aspect dense du cytoplasme.

Résultats biochimiques.

Ils sont présentés d'une manière identique aux précédents :

Le tableau I D. présentant le bilan des lipides et de l'azote en mg/gr de tissu frais.

Le tableau II D. le bilan des lipides rapporté à 1 mg d'azote protéique.

Le tableau III D. le cholestérol libre et estérifié.

Le tableau IV D. les indices d'iode des différents acides gras.

Le tableau V D. les Rf. des différents acides gras.

Nous rappelons que : F.T. = foie total

C. = cytoplasme

M.C. = microsomes

M.T. = mitochondries

N. = noyaux

que les n^{os} 1, 2, 3, 4, 5, sont des séries équivalentes représentant quatre foies, et qu'il s'est écoulé 1 mois et demi entre la série 1 et la série 5.

Répartition des constituants.

Répartition de l'azote.

On peut dire qu'il y a une baisse des chiffres représentant l'azote protéique, 32 % de l'azote se trouve dans le cytoplasme (fraction surnageante contenant les petits microsomes), 17 % dans les mitochondries, le reste est réparti entre les noyaux et le tissu conjonctif.

Répartition des phosphatides.

Les phosphatides montrent une diminution légère dans leur valeur absolue. Ils sont répartis d'une façon égale entre le cytoplasme, les microsomes et les mitochondries, la phase grasses libres en contient peu. La quantité présente dans les microsomes est plus forte que celle du rat normal.

La concentration de ces lipides rapportée aux protéines a augmenté dans le tissu total et dans toutes les structures, en particulier dans les microsomes où elle a presque doublé.

Répartition des glycérides et autres lipides.

Les grasses neutres sont surtout contenues dans les lipides libres et le cytoplasme. Les lipides libres sont moins abondants que dans les cas d'intoxication et dans les cas où le régime est additionné de cholestérol cependant leur taux est supérieur à celui observé chez le rat normal, cette phase représente 35 % des glycérides et esters du cholestérol. Une partie importante des glycérides se trouve dans le cytoplasme où ils sont liés aux protéines, représentant 37 % des glycérides totaux. Les quantités liées aux mitochondries et aux microsomes ont également varié. L'augmentation est entièrement due à une augmentation des glycérides. L'insaponifiable a sensiblement varié et c'est une augmentation de l'insaponifiable X, car le cholestérol libre a diminué dans les lipides libres, et ses esters n'ont que légèrement varié.

La concentration des glycérides croît également (plus que celle des phosphatides) dans le tissu total et les structures, principalement dans le cytoplasme. La concentration de l'insaponifiable augmente surtout dans les microsomes où elle est multipliée par 4.

Séries	Phospholipides					Glycérides					Insaponifiable					Azote				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
FT	19,4	20,8	21,2	20,3	21	19	32,1	31,5	22,9	36,7	10,1	11,7	13,8	10,6	14,5	27,1	26,1	23,1	24,9	25,9
GL	0,55	1,5	1,2	0,5	0,4	7,5	14,2	10,6	7,5	16,5	4,5	4,5	4,6	4,1	5,2					
C	5,7	5,0	6,1	5,0	4,7	6,8	12,1	13,4	7,6	13,8	2,2	4,5	5,8	2,5	3,9	7,8	7,3	6,4	8	10,1
MC	3,2	1,8	2,5	4,4	1,8	1,5	2,1	5,2	2,0	2,3	1,4	1,7	1,7	1,7	2,3	1,8	1,7	1,7	2,4	2,4
MT	4,1	3,2	5,0	4,6	4,2	1,4	2,2	1,5	3,0	1,8	0,8	0,47	0,52	1	1,8	5,8	3,5	4,2	3,5	4,6
N	0,17	0,15	0,94	0,8	0,7	0,3	0,5	0,7	0,7	0,5	0,28	0,21	0,20	0,29	0,25	1,1	0,8	1,1	1,08	0,8

TABLEAU ID.

Séries	Phospholipides					Glycerides					Insaponifiable				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
FT	0,71	0,79	0,91	0,81	0,81	0,70	1,22	1,32	0,92	1,41	0,47	0,44	0,59	0,42	0,56
C	0,73	0,68	0,95	0,62	0,47	0,88	1,65	2,09	0,95	1,38	0,57	0,61	0,71	0,51	0,51
MC	1,77	1,05	1,47	1,81	0,70	0,83	1,23	2,16	0,83	0,95	0,77	1	1	0,70	1
MT	0,70	0,91	1,18	1,31	0,91	0,24	0,91	0,62	0,35	0,39	0,13	0,13	0,12	0,28	0,39
N	0,17	0,18	0,81	0,74	0,87	0,27	0,62	0,63	0,64	0,62	0,25	0,26	0,18	0,29	0,30

TABLEAU II D.

Séries	Phospholipides			Glycerides		
	3	4	5	3	4	5
FT	122,5	115	117	68,6	56	86,9
GL	22,2	42,5	30,7	22,2	37	42
C	48	35	24,1	81	71	85,7
MC	158	134,9	122,5	73,2	48,3	86,8
MT	118	124,7	118,7	39	48,9	94,9
N	96	75,4	66	76	79	78,7

TABLEAU IV D.

Séries	1	2	3	4	5
Cholestérol libre	0,15	0,10	0,08	0,05	0,05
Cholestérol estérifié	0,40	0,47	0,38	0,44	0,23

TABLEAU III D.

Il est intéressant de constater que si les lipides libres ont varié, les lipides liés présentent une augmentation, si bien que le rapport des lipides libres aux lipides liés reste sensiblement le même à la fin des trois mois de régime.

Nature des acides gras.

Les indices d'iode.

L'indice d'iode des phosphatides a baissé légèrement, cette diminution est surtout apportée par les phosphatides des graisses libres qui sont beaucoup plus saturés, alors que les structures ont gardé des indices sensiblement comparables à ceux des animaux témoins. L'indice d'iode des glycérides a baissé d'un quart environ. Cet abaissement est provoqué surtout par les lipides libres, mais aussi par les microsomes et les mitochondries qui se sont enrichis en acides saturés.

Les R_f des acides gras séparés.

Phosphatides.

Les phosphatides des graisses libres ont une composition analogue à celle que l'on trouve chez l'animal témoin (acide palmitique, myristique, oléique, linoléique, plus une tache de R_f 0,95). L'acide stéari-

	Phosphatides		Glycérides	
	Ac. saturés	Ac. insaturés	Ac. saturés	Ac. insaturés
GL		0,95		0,92
	0,72	0,70	0,70	0,71
	0,62	0,59	0,58	0,60
			0,48	0,094
C		0,98		0,96
		0,87		0,82
	0,65	0,81	0,70	0,76
	0,54	0,72	0,57	0,68
MC	0,79	0,79		0,95
	0,71	0,69	0,74	0,86
	0,62		0,65	0,75
			0,56	
MT		0,96		0,92
	0,76	0,81		0,76
	0,66	0,74	0,64	0,65
	0,55		0,54	

TABLEAU V D.

que apparaît dans le cytoplasme et les mitochondries dont les lipides sont composés des trois acides, stéarique, palmitique et myristique.

Il est intéressant de noter que c'est alors le cytoplasme qui présente le maximum de complexité avec quatre acides insaturés parmi lesquels une tache de Rf 0,87 (présente parmi les acides des glycérides du rat témoin) n'est pas identifiée.

Glycérides.

L'acide stéarique est présent dans les lipides de toutes les structures, les microsomes (comme d'ailleurs chez l'animal témoin) présentent les trois acides, ainsi que les lipides libres (C_{18} , C_{16} , C_{14}).

La composition en acides insaturés des lipides mitochondriaux est normale, par contre il existe une inversion intéressante entre les acides des microsomes du rat témoin et celle des acides du cytoplasme des animaux au régime sans choline, et inversement. Ainsi les acides oléique, linoléique, une tache de Rf 0,82, une tache de Rf 0,95, représentent la composition des lipides des microsomes normaux et celles des lipides du cytoplasme des cellules hépatiques après trois mois de régime.

En résumé.

Si nous envisageons chaque fraction cellulaire séparément :

Les noyaux.

Ils sont un peu plus riches en lipides.

Les mitochondries.

Elles présentent peu de variation aussi bien dans leur composition en lipides complexes, que dans leur composition en acides gras.

Les microsomes.

Cette structure est beaucoup plus touchée par les variations. La concentration des lipides de toutes sortes (phosphatides, glycérides, insaponifiable) a augmenté d'une façon importante. La composition des acides gras a également varié, en particulier les acides liés aux glycérides (diminution des acides insaturés, augmentation de l'acide stéarique).

Le cytoplasme.

Il montre quelques variations, la concentration des glycérides croît ainsi que celle de l'insaponifiable, les acides qui composent ses lipides ont également varié et l'indice d'iode a baissé.

Dans les graisses libres les glycérides ont augmenté, ainsi que l'insaponifiable X et dans un ordre beaucoup moindre les esters du cholestérol. L'indice d'iode a baissé sans que la composition des lipides en acides gras varie, seules les proportions de ces acides entre eux ont changé.

TROISIEME PARTIE.

COMPARAISON ET CONCLUSION.

I. — COMPARAISON.

Résultats histochimiques.

Il apparaît immédiatement que la stéatose obtenue par addition de 5 % de cholestérol au régime (parfaitement équilibré) ne se compare pas aux deux autres stéatoses.

En dehors de la surcharge lipidique périportale, formée de multiples vacuoles réparties dans tout le cytoplasme sans repousser les noyaux, les lobules hépatiques ont un aspect normal avec toutes leurs activités conservées. Nous avons vu d'après LE BRETON et coll. [54] que ce foie gras n'évolue jamais vers la cirrhose. Un fait cependant le rapproche des deux autres foies gras : un certain aspect congestif, avec disparition de l'activité et des phosphatases alcalines dans la paroi des vaisseaux.

Il y a plus d'éléments de comparaison entre les stéatoses par agent toxique et les stéatoses provoquées par le déséquilibre protéines/lipides/choline dans le régime. Ce dernier foie gras apparaît comme un stade précoce du premier. Nous allons d'abord évoquer leurs points communs ; il est entendu que les modifications sont toujours plus marquées dans les foies d'animaux intoxiqués. La surcharge est centrolobulaire, formée de gouttelettes qui ont tendance à confluer et à repousser le noyau. Au centre du lobule il y a raréfaction des mitochondries et diminution de l'activité estérasique. Les phosphatases alcalines sont négatives. Il existe des modifications nucléaires, les noyaux sont hyperchromatiques, gros et plurinucléolés ou petits et contractés toujours très basophiles.

Nous savons par les travaux de BEST et RIDOUT, GRIFFITH et Coll., GYORGY, HARTROFT [18, 104, 108, 113, 121] que l'évolution des stéatoses par déficience en protéines se fait vers la cirrhose. Nous n'avons pas pu le constater, le régime n'ayant pas été maintenu assez longtemps.

Mais on peut dire que la nécrose précoce et surtout la dégénérescence hydropique sont spécifiques de l'atteinte toxique, indépendante de la stéatose et doivent être placées tout à fait à part, ainsi que l'infiltration des polynucléaires et des éléments macrophagiques.

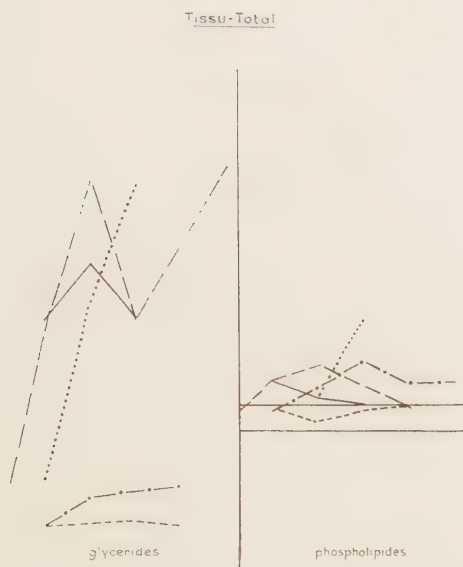
Il existe encore d'autres caractères distinctifs entre ces deux foies gras. Le glycogène disparaît des cellules hépatiques qui se chargent en lipides, dans les intoxications alors que dans les carences en choline il existe en même temps que la surcharge lipidique une accumulation très importante de glycogène. Cette différence reflète sans nul doute des troubles du métabolisme différents, voir même opposés.

La basophilie disparaît dans la région centro-lobulaire précédant la nécrose. Les mitoses sont très nombreuses, avec également des amiotoses, toutes situées autour des espaces portes et qui progressent vers le centre du lobule ; l'effort de régénération est visible après 24 heures si l'attaque a été brutale, son apparition est plus tardive si l'intoxication a été ménagée.

L'influence du sexe sur l'étendue de la surcharge lipidique est également différente pour les stéatoses toxiques où le sexe ne semble pas jouer un rôle, alors que son influence est très marquée dans les régimes hyperlipidiques. Les femelles présentent des surcharges moins importantes.

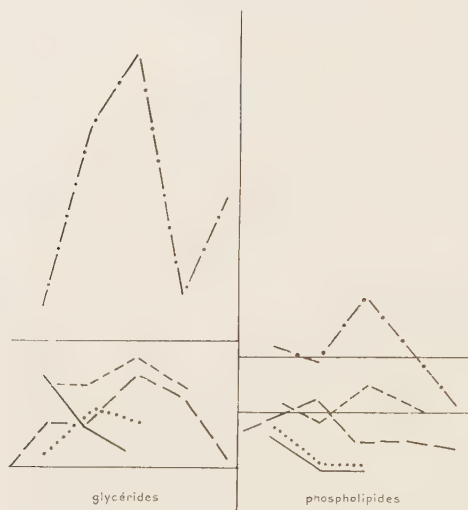
Résultats chimiques.

Nous avons rassemblé dans un ensemble de courbes les résultats obtenus. Les concentrations des phospholipides, des glycérides et des esters du cholestérol par milligramme d'azote protéique ont été portées en ordonnées, les numéros des animaux en abscisse. Dans un ordre chronologique pour les animaux au régime et par doses croissantes dans les intoxications (dans ce dernier cas la courbe donne une idée de l'évolution de la stéatose), les variations normales sont indiquées par deux parallèles. Cette représentation fait apparaître nettement les différences entre les divers traitements.

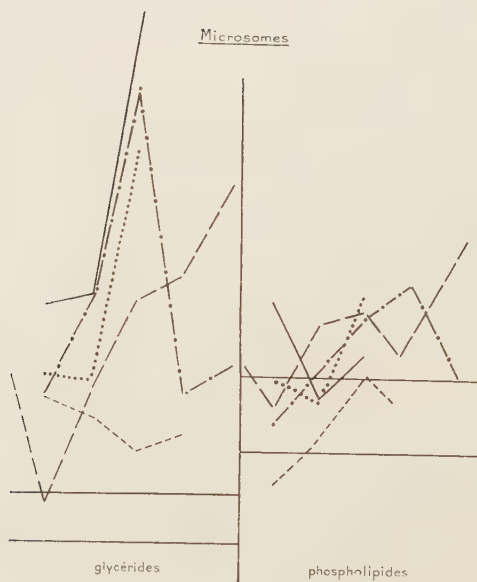


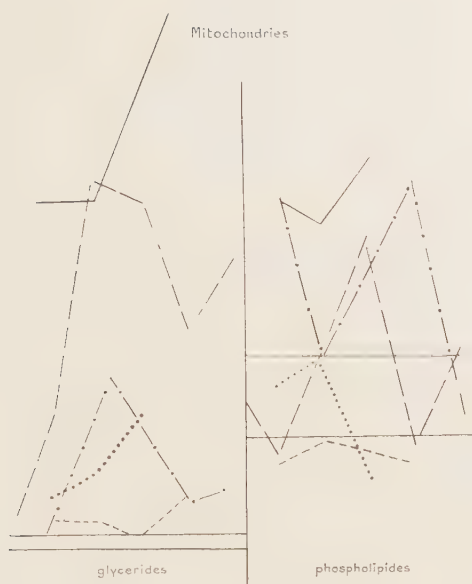
Intoxication par injections	
Intoxication (par inhalation) aiguë	-----
Intoxication prolongée	- . - . - .
Régime enrichi en cholestérol	-----
Régime dépourvu de choline	- - - - -

Cytoplasme

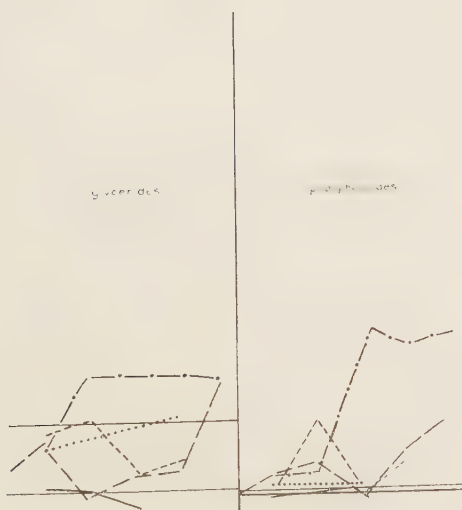


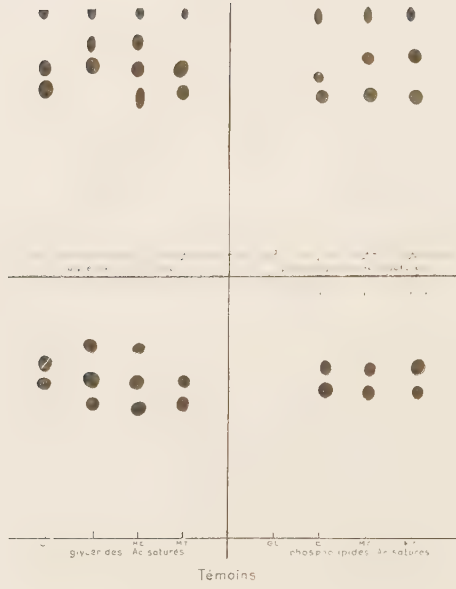
Microsomes

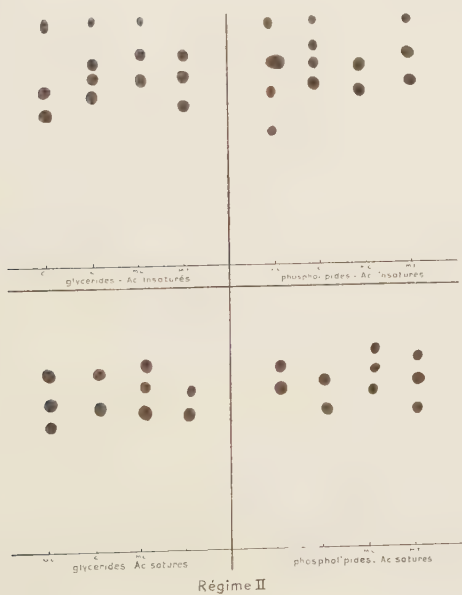
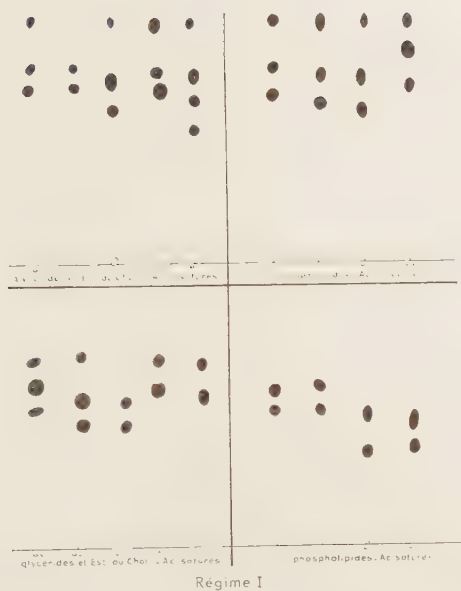




Noyaux







Dans cette série de résultats nous devons mettre à part ceux relatifs au régime I (régime équilibré additionné de 5 % de cholestérol) puisqu'il est le seul à provoquer une accumulation d'esters du cholestérol à côté des glycérides. Dans nos expériences les esters du cholestérol sont multipliés par trois et les glycérides par deux, dans les graisses libres. La répartition de ces lipides sur les structures n'est pas modifiée. En ce qui concerne les phospholipides le rapport des phosphatides totaux aux protéines totales n'a pas varié, mais les phospholipides libres ont augmenté, et leur concentration a diminué dans les microsomes et les mitochondries ce qui peut être expliqué par un léger accroissement des protéines. Toutefois l'ampleur des variations reste faible.

Parmi les résultats que nous venons d'évoquer aucun n'est commun aux deux autres stéatoses. Un seul fait rapproche ce foie gras de celui provoqué par le régime II (déséquilibre lipides/protéines/choline) une diminution de l'indice d'iode, en particulier dans les graisses libres, mais aussi dans les glycérides des structures, qui se traduit par un enrichissement en acides stéarique et palmitique. Il existe aussi dans les deux cas un certain enrichissement en insaponifiable X, plus marqué dans le régime II. Mais la stéatose provoquée par déficience en choline se rapproche davantage des stéatoses toxiques. La surcharge est glycéridique dans les deux cas, il existe une accumulation dans les structures, en même temps qu'une chute des protéines. Le rapport phospholipides totaux aux protéines totales a augmenté. Il existe aussi une augmentation légère du cholestérol libre et estérifié dans les graisses libres.

Si nous comparons structure par structure, nous voyons que les variations ont la même ampleur pour les mitochondries et les microsomes, mais différent pour le cytoplasme et les noyaux. Dans le cytoplasme des foies gras d'animaux intoxiqués la concentration des phospholipides tend à diminuer alors qu'elle tend à croître au cours du régime II, l'intoxication ne provoque pas de modification des lipides du noyau, mais le régime II provoque une accumulation sur cette structure. Les mêmes remarques peuvent être faites pour la concentration des glycérides.

Dans les deux cas le rapport des phosphatides libres aux phosphatides liés diminue. Les lipides liés aux protéines augmentent, l'enrichissement du foie semble se faire par l'intermédiaire des structures cellulaires. Ce phénomène de concentration des lipides dans les microsomes et les mitochondries apparaît dès les premières expositions aux vapeurs toxiques comme le montre le tableau C III, il va en s'intensifiant.

Il existe entre ces deux foies gras une différence dans la composition des lipides accumulés.

En effet il n'y a aucune diminution de l'indice d'iode des lipides libres dans les intoxications, mais au contraire une tendance vers l'augmentation. Cette tendance est surtout marquée pour les glycérides dont l'indice d'iode rejoint celui des phospholipides. Ces mêmes glycérides modifient leur composition qui devient identique à celle des phospholipides. Il s'accumule donc plus d'acides insaturés.

II. — CONCLUSION.

En conclusion de ces comparaisons on peut dire

Qu'il existe des points communs aux trois foies gras :

— La congestion du foie et la disparition des phosphatases alcalines dans la paroi des vaisseaux ; une augmentation des phospholipides libres.

Des points communs aux deux stéatoses nutritionnelles :

— L'augmentation de l'insaponifiable X et la variation de la composition des glycérides libres et liés.

Des points communs aux foies gras provoqués par déficience en choline et par intoxication :

— Le caractère glycéridique de la surcharge, la perte de protéines, l'accumulation de lipides sur les structures cellulaires, la diminution de l'activité estérasique, une certaine altération des noyaux.

Des caractères spécifiques des foies gras par intoxication :

— La disparition du glycogène, la disparition de la basophilie du cytoplasme, une accumulation d'acides gras insaturés, un caractère rapidement nécrotique avec dégénérescence hydropique, un effort de régénération très net, aucune influence du sexe des animaux.

QUATRIÈME PARTIE.

DISCUSSION.

Nous discuterons séparément chacun des points de comparaison qui ont été dégagés. Nous essaierons de faire ressortir les éléments qui pourraient distinguer et expliquer les effets du tétrachlorure de carbone.

I. — POINTS COMMUNS AUX TROIS FOIES GRAS.

1^o) Troubles de la circulation.

Il apparaît dans les foies gras une congestion des sinusoides, qui pourrait être le résultat d'un ralentissement de la circulation.

Certains auteurs attribuent même à ce ralentissement l'évolution pathologique de la stéatose, et la stéatose elle-même. Le gonflement du parenchyme hépatique observé dès les premiers moments causerait des obstructions dans la circulation intra-hépatique et par là aggraverait les lésions.

HIMSWORTH en 1947, GLYNN et HIMSWORTH 1946-48 [127, 97], décrivent une compression des sinusoides après une seule injection de CCl_4 , ils pensent d'abord à une action directe du toxique sur les cellules hépatiques ou sur un intermédiaire nerveux. WAKIM et MANN en 1942 [232] avaient décrit une obstruction des sinusoides avec circulation collatérale. Mais en 1948 HIMSWORTH, GLYNN et LINDAN [98] montrent que la compression des sinusoides existe dans les régimes hyperlipidiques et peut être due à l'infiltration lipidique. DANIEL, PRICHARD et REYNOLD [63] après avoir préparé leurs animaux de la même façon que ces auteurs ne trouvent aucune constriction et accusent la méthode d'injection à l'encre de chine d'être responsable des troubles observés. Ils concluent que l'ischémie ne peut être donnée pour responsable de troubles centro-lobulaires. Les mêmes auteurs montrent en 1952 [64] que même lors de cirrhoses très graves le volume de sang passant par le foie n'est pas considérablement modifié et n'observe pas de circulation collatérale, quelle que soit la méthode utilisée pour obtenir la cirrhose (CCl_4 ou déficience en protéines). En

1958 RAPPAPORT, KNISELY, RIDOUT et BEST [196] observent après 24 heures d'un régime cholinoprive, une accumulation de gouttelettes lipidiques le long des sinusoides. Ces gouttelettes moins élastiques que le parenchyme lui-même compriment les sinusoides et provoquent une accumulation de sang.

Quoiqu'il en soit on observe toujours une congestion dans les foies gras en même temps que la disparition des phosphatases alcalines de la paroi des vaisseaux dès les premières heures de l'intoxication (WAHI et TANDON [230] ; nous n'avons pas eu l'occasion de trouver ce fait signalé dans les autres foies gras. Il existe certainement des troubles circulatoires précoces mais leurs causes restent encore inconnues.

2°) Augmentation des phospholipides libres.

Dans les foies gras, la proportion des phospholipides libres s'accroît. Dans le cas des intoxications ces phospholipides ayant la même composition que les phospholipoprotéines du cytoplasme et des structures nous avons pensé à un entraînement physique dû à une dissolution dans la grande quantité de glycérides libres. Mais il s'agit d'un phénomène tout autre puisque les phosphatides libres existent dans les stéatoses nutritionnelles où elles ont une composition voisine des glycérides. Ces résultats confirment ceux obtenus par LE BRETON et coll. dans des conditions voisines [54].

Quelle peut être la signification de ces lipides libres ? Le passage à l'état libre est peut-être nécessaire avant la libération dans le courant sanguin, ce qui n'explique pas les modifications de composition. Il faut plutôt penser à des troubles du métabolisme, plusieurs suppositions sont possibles. Ces phospholipides seraient normalement catabolisés et s'accumuleraient à la suite du ralentissement des oxydations, ou encore le fait d'être composés d'une quantité importante d'acides saturés les rendraient incapables d'assurer le métabolisme normal.

II. — POINTS COMMUNS AUX STÉATOSES NUTRITIONNELLES.

1°) Augmentation de l'insaponifiable.

Cette accumulation de l'insaponifiable X, c'est-à-dire des lipoides autres que le cholestérol a été signalée par CLÉMENT et LE BRETON [54] dans les foies gras au cholestérol, mais elle existe aussi chez nos animaux mis au régime hyperlipidique sans choline. L'augmentation est surtout importante dans les graisses libres, les quantités revenant aux structures restant sensiblement les mêmes. Les lipoides groupés sous ce nom contiennent des vitamines liposolubles, des stérols autre que le cholestérol, des alcools à longues chaînes et des carbures apolaires. Ces éléments existent déjà en quantité légèrement plus forte chez les femelles. Ils sont peut-être les témoins de l'hyperactivité des surré-

nales, les corticoïdes étant catabolisés dans le foie, et ont quelques rapports avec les images de rétention biliaire que nous avons pu observer et avec un certain ralentissement de la sécrétion de la bile dans les stéatoses.

On remarque que dans les intoxications l'augmentation de l'insaponifiable doit être parallèle à celle des glycérides car la teneur par rapport au poids frais se conserve égale à celle des témoins malgré l'accumulation des lipides.

2°) Accumulation des acides saturés.

L'accumulation des acides saturés dans les foies gras d'origine nutritionnelle est un fait connu. CHANNON et WILKINSON [46] trouvent que les acides accumulés sont directement influencés par les graisses de l'alimentation. RAMAN [195] a montré que la nature des phosphatides est également influencée dans un régime cholinoprive, la proportion d'acides concrets devient plus forte. Nous avons constaté des faits semblables, il y a augmentation des acides palmitique et stéarique dans les phospholipides, cependant cette accumulation est plus marquée dans les glycérides.

Il est intéressant de savoir ce qui se passerait si le régime stéatosant contenait une majeure partie d'acides insaturés.

WAGNER, SCELIG et BERNARD [228] n'observent pas de modifications chez de jeunes rats recevant une nourriture contenant 10 % d'huile d'olive, de margarine ou de beurre, mais leur régime n'est pas stéatosant. HAIMOVICI [47] constate que dans un tel régime les glycérides seuls subissent une transformation, et surtout celle des lipides libres et du cytoplasme. Il faut un régime pauvre en lipides (DAM et ENGEL) [62] ou lipidoprive (HAIMOVICI) pour modifier la composition des acides gras insaturés des phospholipides.

L'accumulation d'acides saturés dans les glycérides est explicable la synthèse des phospholipides se faisant en choisissant dans les acides qui arrivent au foie, les plus insaturés, les glycérides mis en réserve s'appauvriront alors en tétraènes. La désaturase des acides gras mise en évidence dans le cytoplasme (LE BRETON et CLÉMENT-CHAMPOUGNY [143] JACOB [136, 131] a été montrée comme ayant des conditions d'action très étroites, en particulier un excès de substrat l'inhibe. Il est donc concevable que dans les conditions provoquant la stéatose son activité se trouve considérablement ralentie. CALIFANO et ARTOM [33] ont montré une diminution de l'activité déshydrogénante du foie dans les carences en choline.

Mais cette diminution de l'activité désaturante a également été mise en évidence par CALIFANO dans les intoxications, or nous n'avons pas trouvé de diminution de l'indice d'iode correspondant. Au contraire, si la composition des phospholipides reste inchangée, les glycérides montrent une tendance vers la désaturation, leur composition se rapproche de celle des phospholipides. Cette constatation n'est pas isolée HALLIDAY [117] trouve une augmentation de l'indice d'iode dans les intoxications phloridzinique, HAIMOVICI dans l'hépatome trouve une diminution du rapport tétraène phosphatidique/tétraène glycéridique.

La rapidité de l'installation du foie gras dans les intoxications favorise certainement le maintien de la composition des phosphatides. Les modifications des glycérides libres peu importantes d'ailleurs seraient peut-être dues à la libération directe des glycérides liés aux structures par dégénérescence de ces dernières, comme le montrent nos résultats et les observations de OBERLING et ROUILLER [186].

III. — POINTS COMMUNS A LA STÉATOSE TOXIQUE ET A LA STÉATOSE PAR DÉFICIENCE EN CHOLINE.

1°) Caractère de la surcharge lipidique.

Le caractère des surcharges rapproche la stéatose toxique et la stéatose par carence en choline. Ces surcharges sont centro-lobulaires et glycéridiques.

L'accumulation de glycérides peut s'expliquer. Les travaux de TERROINE avaient conduit à donner aux phospholipides le nom d'éléments constants ; tous les travaux modernes insistent sur l'importance de ces composés dans le métabolisme des lipides (voir L. LÉVY) [151]. Les phospholipides sont constants dans leur composition et dans leur quantité nous n'avons trouvé une diminution que lorsque l'animal était mourant. Les glycérides, dont le rôle est mal connu, constituent un élément ayant des possibilités de variations assez larges dans la cellule hépatique intacte. Ainsi lors de l'arrivée au foie d'une quantité considérable d'acides gras, ceux-ci ne pouvant être en totalité utilisés pour le renouvellement des phospholipides, ou oxydés sont mis en réserve sous forme de glycérides à partir desquels ils pourraient être facilement libérés pour faire face aux besoins. Si l'arrivée d'acides gras continue, le phénomène ira en s'intensifiant, et d'autant plus que la synthèse des phospholipides sera ralentie, ainsi que le catabolisme des acides gras comme il a été montré par de nombreux auteurs.

Il serait intéressant de voir, si dans les mitochondries et les microsomes la synthèse des glycérides est accélérée ou si leur « turn over » est ralenti comme celui des phosphatides.

Comment expliquer dans les foies gras au cholestérol la présence d'esters de ce composé à côté des glycérides. Il faut sans doute envisager le rôle détoxiquant du foie et également son rôle dans le métabolisme des stérols qui sont détruits dans cet organe.

Il est certain que le cholestérol ingéré est amené au foie sous forme d'esters, il sera alors hydrolysé et sans doute estérifié, puisque ces esters ont dans le foie la même composition que les glycérides, alors que dans le plasma ils sont liés aux acides indispensables d'après LOUEDEC [161]. Par ailleurs cette surcharge n'est pas sensible à un apport de choline en excès, mais est cependant liée aux métabolismes des phospholipides comme le montrent les courbes de décharge du foie. Il y a en premier lieu une diminution des esters du cholestérol en même temps qu'une augmentation des phospholipides, puis une remontée de ces esters avec une nouvelle chute des phospholipides, enfin un retour aux proportions normales (LE BRETON et coll.).

La situation, dans le lobule hépatique, des lipides accumulés doit avoir une signification métabolique, elle soulève des problèmes difficiles.

Dans les intoxications les auteurs ont cherché de nombreuses explications : la partie portale mieux irriguée supporterait mieux en les éliminant plus vite les substances toxiques. D'une part il faut admettre un ralentissement de la circulation, qui nous l'avons vu est discuté et d'autre part, ceux de nos animaux qui ont inhalé d'une façon continue les vapeurs toxiques, (ce qui soumet la partie portale à une action continue du toxique) présentent également une surcharge centro-lobulaire.

Rien de semblable ne peut être invoqué dans les carences protéiques où la surcharge est également centro-lobulaire. Dans un cas de foie gras provoqué par des injections d'hydrocortisone répétées pendant 15 jours, nous avons constaté une surcharge périportale, comme dans le foie gras du jeûne. Cette différence reste inexplicée, peut-être faut-il envisager ici encore une influence du métabolisme des protéines, l'accumulation serait centro-lobulaire si ce métabolisme était touché. On peut encore envisager un rôle de la surrénale, la réaction de cette dernière n'étant pas la même dans les deux cas.

2°) Perte des protéines.

Une dégénérescence grasse des structures cellulaires a été constatée au microscope électronique dans les intoxications au tétrachlorure de carbone par ROULLER. Elles suivent chronologiquement et quantitativement nos observations.

L'altération précoce de l'ergastoplasme suivie de sa disparition serait d'après cet auteur la cause de la disparition de la basophilie du cytoplasme et de la perte progressive de l'acide ribonucléique.

Or c'est dans le cytoplasme et sur les microsomes que nous apparaissent les premières manifestations de l'intoxication, chute de l'azote protéique et augmentation des lipides, les mitochondries sont atteintes postérieurement comme le confirme le microscope électronique. Les gouttelettes graisseuses se formeraient (toujours d'après les observations au microscope électronique) dans l'hyaloplasme, dans les régions où il se transforme en masse feutrées, réalisant l'expression de la lipophanérose.

D'autres gouttelettes se constituent, portant des formations qui rappellent les crêtes mitochondriales et pourraient être une dégénérescence grasse des mitochondries. Etant donné la disparition d'un certain nombre de ces organites comme le prouvent les préparations histologiques, la disparition de l'azote protéique revenant aux mitochondries peut exprimer cette disparition mais elle renforce l'idée d'une concentration des lipides sur les éléments restants. On sait que la synthèse des glycérides et des phosphatides se fait concurremment dans les mitochondries et les microsomes ; ainsi il y aurait une concentration dans ces organites avant libération des lipides dans le cytoplasme et à l'état libre. Le gonflement des mitochondries pourrait être dû à cette accumulation de lipides.

Les phénomènes seraient de même nature dans les foies gras par déficience en choline, et constitueraient une caractéristique des foies gras où le métabolisme des protéines est troublé en même temps, ou peut-être avant, celui des lipides, comme en témoignerait la disparition de l'acide ribonucléique qui d'après DIANZANI et d'autres auteurs [71, 72, 73] est préalable à l'apparition des lipides libres. Dans les stéatoses dues à un excès de cholestérol il n'y aurait pas de troubles des protéines.

Cette chute de protéines constitue un état pré-nécrotique où il y aurait destruction des protéines de constitution soit pour y trouver les éléments nécessaires à la synthèse de la choline, soit que par suite de cette déficience la synthèse des protéines soit elle même très ralentie. Cette hypothèse est plutôt à envisager car le régime ingéré par nos animaux contient une quantité suffisante de protéines pour assurer les besoins en présence de choline. En rapport avec la dégénérescence des mitochondries, DIANZANI observe dans le foie gras par intoxication et par déficience en choline un passage à travers la membrane mitochondriale de certains enzymes solubles (phosphatases acides, cytochrome, pyridine nucléotides) vers le cytoplasme ce qui désorganiserait les phosphorylations et par là aussi bien le métabolisme des lipides que des glucides et des protéines. Il trouve également une perte de 36 % de DPN après injection de CCl_4 et de 47 % au cours des déficiences en choline, le rapport pyridine nucléotides/pyridine nucléotides réduits décroît de 3 à 1,61. L'augmentation du DPNH montre que la balance synthèse-décomposition est rompue en faveur de la synthèse des acides gras.

S'il vient à l'esprit que ces troubles sont le résultat d'une action physique du toxique, comme l'avaient pensé CHRISTIE et JUDAH [47] en étudiant plus particulièrement les troubles du cycle de KREBS, comme nous serions tentés de le penser en observant nos résultats (nous avons en effet constaté la présence de protéines altérées accompagnant les lipides libres au cours des centrifugations), il est plus difficile de trouver une explication lors de la carence en choline, et ceci vient renforcer l'idée de l'importance de ce composé. Cette même choline ne protège pas le foie contre les effets de l'intoxication ; elle favorise seulement la régénération (BEST et RIDOUT) [157] si l'intoxication est suspendue, aussi on en vient à se poser la question de la possibilité d'une action directe du toxique sur la choline et son métabolisme. Ce qui par l'intermédiaire d'une action sur l'acétylcholine expliquerait les troubles nerveux (système nerveux central) de nos animaux.

3°) Diminution de l'activité estérasique.

La diminution de l'activité estérasique constatée dans les intoxications et dans les carences en choline est un fait commun observé dans de nombreux foies gras, WAHI et TANDON, 1955 [230], CALIFANO, 1934 [33, 34], STAEMLER, 1926 [209], intoxications ; MEIKELMAN, WELLS, RICHERT et WESTERFIELD [173], BARGONI [14], régimes hypoprotéïques. CALIFANO affirme que la lipase hépatique disparaît, ce fait mériterait d'être confirmé car de nombreux auteurs appellent lipase, l'enzyme

hydrolysant les monostéarates bien qu'il ait plutôt le caractère d'une estérase, nous avons classé cette activité dans les estérases non spécifiques. Cette activité est néanmoins importante dans le métabolisme des lipides.

Il faut se demander s'il s'agit ici d'une inhibition spécifique ou d'un ralentissement dû à la présence d'une grande quantité de lipides dans les cellules. Nous pensons que cette interprétation est la meilleure, car dans les intoxications ménagées et les carences en choline l'activité se trouve localisée autour des vacuoles lipidiques. Ceci nous amène à envisager quelles sont les activités enzymatiques qui sont altérées, et que signifie leur diminution d'activité dans les foies gras.

La diminution de l'oxydation des acides gras est générale dans tous les foies gras, que cette activité soit recherchée par l'oxydation de l'octanoate ou du stéarate (M. LEVY, ARTOM, COOK et EDSON) (CALIFANO) [148, 149, 58, 8]. CALIFANO attribue cette chute d'activité à la saturation de la surface de l'enzyme par les acides gras, LE VAN HUNG, LÉVY et LEGRAND [152, 153] l'attribuent à la déficience en choline.

Le ralentissement de la synthèse des phospholipides est également un fait unanimement reconnu par tous les auteurs dans tous les foies gras (voir M. LÉVY [147]).

La choline-estérase est également ralentie dans les régimes hypoprotéiques et dans les intoxications (ROSENTHAL et FALL, ELLIS et SANDERS [200, 184]. La respiration de base du tissu hépatique est aussi modifiée, mais nous avons vu que les résultats étaient contradictoires et difficiles à interpréter.

Dans les intoxications de nombreuses autres activités enzymatiques ont été modifiées : succinodehydrogénase, glycérophosphate-déhydrogénase, transaminase, alcool-déhydrogénase, malonateoxydase, xantine-oxydase, glucosé-déhydrogénase (CALIFANO, CHRISTIE et JUDAH, DIANZANI, LE VILLENA et MITIDIERI [35, 221]). BLOCK et CORNISH [21] constatent que l'inhibition est différente suivant les doses et que l'estérase est la plus sensible. Nous avons remarqué dans un travail antérieur [123] que l'activité de la succinodéhydrogénase diminuée dans le tissu entier, est identique dans les mitochondries avant et après l'intoxication ; nous nous étions demandé si la chute d'activité des coupes de foies n'était pas provoquée par la dégénérescence et la disparition d'une forte proportion des mitochondries. Il est très important de bien spécifier le moment où apparaissent les modifications ; la désorganisation du cycle de KREBS apparaît dès la 10^e heure de l'intoxication, mais il s'agit d'une intoxication brutale avec certainement une nécrose du foie dont il faut tenir compte dans les mesures faites sur le foie entier. Dans l'ensemble les autres modifications semblent bien secondaires à la stéatose. Le fait que les facteurs invoqués dans l'inhibition soient sans effets *in vitro* (carence, CCl_4) ne parle pas en faveur d'une inhibition directe.

Pour conclure à l'action déterminante, dans l'installation du foie gras, de la diminution d'activité des enzymes, il est indispensable de connaître avec précision à quel instant dans l'installation de la stéatose, elle se manifeste, avant ou après l'apparition des lipides.

4°) Modifications des noyaux.

Les noyaux apparaissent altérés, ils sont pycnotiques avec des nucléoles hypertrophiés et très basophiles. Mais dans l'état actuel de nos connaissances, il est impossible de tirer une conclusion de ces observations. Des dosages d'acides désoxyribonucléiques au cours des intoxications actuellement en cours dans notre laboratoire, nous permettront peut-être de compléter les données histologiques. Nous pouvons dire déjà que la teneur de ces noyaux en cet acide ne semble pas modifiée.

IV. — CARACTÈRES SPÉCIFIQUES DES STÉATOSES PAR INTOXICATION.

1°) Métabolisme du glycogène.

L'opposition qui existe entre la disparition progressive du glycogène dans les foies des animaux intoxiqués et son accumulation chez les animaux carencés en choline a certainement un intérêt dans le déterminisme des deux foies gras.

Depuis que ROSENFELD en 1932 affirmait qu'il y avait un antagonisme entre le dépôt de graisses et de glycogène, MYASAKI [176] ZUMO et RUBINO [206], TREADWELL, KING, BELL et TIDWELL [218], MAC LEAN, RIDOUT et BEST [162], WANG, HEGSTED, LAPIE, ZAMCHAECK et BLACK [235], DARNAUD et FERRET en 1954 [65], MONESI en 1957 [177] se sont opposés à cette affirmation. Une accumulation concomitante des deux sortes de composés est possible. Chez nos animaux carencés en choline nous assistons à une surcharge double, glycogène et lipides, mais chez les animaux intoxiqués le glycogène disparaît au fur et à mesure que les lipides augmentent, il n'y a pas dans une même cellule présence des deux accumulations. Dans les intoxications graves le glycogène a disparu.

VALORI s'oppose à cette constatation alors que CALI en 1955 [32] l'affirme. Nous pensons que les contradictions entre les auteurs sont dues à ce que certains mettent leur animaux au jeûne assez longtemps avant de les sacrifier, pour tous les nôtres, nous avons réduit la période de jeûne avant le sacrifice à 15 heures. Il est possible que dans les intoxications une stimulation de l'hypophyse active la lipogénèse à partir du glycogène. Quelques constatations semblent prouver des troubles de la glycogénèse dans les intoxications. Après intoxication au CCl_4 les animaux ont une intolérance au glucose, CALIFANO, DE LUCIA [74], MEIER et THONES [172] concluent à une mauvaise utilisation du glucose. D'autre part LACHAUD [135] trouve une chute de l'hyperglycémie provoquée.

Dans les stéatoses nutritionnelles la glycogénèse a été trouvée fortement diminuée, TREADWELL, KING, BELL et TIDWELL [218]. Il faut donc penser qu'il y a un ralentissement de la glycogénolyse, CACHERA et LAMOTTE, LE COUNT et SINGER [29, 145].

2°) Nécrose et dégénérescence hydropique.

La nécrose centro-lobulaire a été attribuée à l'anoxie due à une irrigation défectueuse (HIMSWORTH et GLYNN [122], WAKIN et MANN) s'appuyant sur le fait qu'il est possible de provoquer des nécroses par des facteurs connus pour leur action sur les capillaires (encore de chine). Pour HIMSWORTH, CAMERON et MICHAEL [36], une ligature de l'artère hépatique provoque une nécrose et même une dégénérescence hydropique. Pour ces mêmes auteurs la nécrose est postérieure à l'apparition des cellules en « ballon », alors que SMETANA, et WAHI et ARORA [207, 229] trouvent les cellules en « ballon » postérieures à la nécrose. Les travaux récents font penser que cette interprétation trop mécanique des faits est imparfaite. Les premières manifestations de la nécrose sont une réaction inflammatoire avec infiltration de polynucléaires et la disparition de la basophilie du cytoplasme des cellules entourant la veine centrolobulaire. Nous pensons que les contradictions entre les différents auteurs sont dues aux modes d'intoxications. En effet nous avons pu constater que l'apparition de ces phénomènes les uns par rapport aux autres, était chronologiquement différente suivant la brutalité de l'intoxication. Cependant nous avons toujours constaté chez nos animaux l'apparition des cellules en « ballon » postérieure à celle de la nécrose. Celle-ci, qui de l'avis de très nombreux auteurs, et comme le montrent nos résultats, doit être complètement dissociée de la stéatose, est d'après HANDLERS et FOLLIS [118] due à une carence en groupe SH. Cependant nous pensons que dans le cas des intoxications cette vue doit être nuancée. La rapidité avec laquelle disparaît la basophilie du cytoplasme, l'élévation également très rapide du taux des acides aminés libres, semblent bloquer les cellules dans un état de pré-nécrose (WAHI et TANDON, STOWELL et LEE, TSUBOI et STOWELL [219, 210] ; l'état pré-nécrotique joue un rôle dans l'évolution de la stéatose. La rapidité avec laquelle ces phénomènes se manifeste fait ici encore penser à une action directe du toxique sur les protéines hépatiques.

D'après Charles ROULLER [186] la dégénérescence hydropique serait due à une attaque spécifique de l'ergastoplasme provoquant dans la cellule où il a lieu une incompatibilité avec l'accumulation des lipides, mais on peut aussi donner une autre interprétation. Ces cellules se trouvent placées dans une zone intermédiaire entre la zone nécrotique et la zone de surcharge lipidique. Ne seraient-elles pas une conséquence de la nécrose, celle-ci créant une zone où se trouvent des acides aminés et des acides gras libres, de petites molécules, de l'eau ; milieu de pression osmotique faible. Les transformations de l'ergastoplasme pourraient être le résultat du déséquilibre entre ces forces.

L'effort de régénération qui apparaît très rapidement dans le foie intoxiqué (avant la présence de cellules nécrotiques) pose le problème du déclenchement des mitoses. Il est possible qu'une forte diminution de l'activité des cellules hépatiques soit suffisante pour les provoquer, ce qui expliquerait l'absence de mitoses dans les foies gras au cholestérol, où l'activité de la cellule est normale.

3°) Rôle du sexe des animaux.

GYORGY en 1948 [109] signalait qu'avec un même régime stéatosant le foie est toujours plus gras chez les mâles que chez les femelles chez qui il peut même être absent. En 1957 AUJAR et CHANY [12, 13] observent les mêmes effets et montrent que l'ovariectomie n'est pas suffisante pour unifier les résultats, et qu'il faut injecter de la testostérone. Nous avons pu constater sur nos animaux des effets semblables avec les régimes hyperlipidiques, il est intéressant de noter que pour une accumulation beaucoup moins importante de lipides à l'état libre les modifications cellulaires sont du même ordre, et on peut dire qu'il y a stéatose.

Il en est tout autrement dans la stéatose par intoxication. Nous avons choisi des femelles parce que HARRISON [119] signalait qu'elles formaient plus facilement des foies gras que les mâles. Dans les conditions d'intoxication que nous avons utilisées, nous n'avons pas observé de différences entre les deux sexes. Dans un travail récent, 1958 ; MALLOV [167] montre que dans les intoxications à l'éthanol les femelles présentent une infiltration plus forte que les mâles et que la testostérone a une action lipotrope.

Cette opposition entre les deux types de foie gras signifie-t-elle que le métabolisme des lipides est différent chez les mâles et chez les femelles ? ceci est fort peu probable ; ou que le point d'impact des deux agressions est placé différemment dans le métabolisme hépatique ?

Dans nos expériences la brutalité de l'agression toxique dépasserait d'emblée les possibilités d'adaptation et de régulation de l'organisme ; l'action des gonades serait alors éliminée et pourrait réapparaître lors d'intoxications de longue durée.

Nous avons observé chez tous nos animaux dans les intoxications brutales ou d'assez longue durée un « stress » de la surrénale et une augmentation des cellules A du pancréas endocrine, le foie présente alors une surcharge importante et une nécrose. Dans les intoxications ménagées la surrénale est adaptée mais il y a diminution du nombre des cellules A. Le syndrome d'adaptation ne peut jouer que dans les intoxications ménagées. AMELOTTI [2] dans une revue d'ensemble sur l'action du tétrachlorure de carbone injecté pendant 20 jours, trouve à la fois un épuisement de l'hypophyse et du cortex surrénal, ainsi qu'une atrophie des glandes sexuelles. Il est donc possible que pendant l'intoxication il existe une mise en repos des gonades par l'intermédiaire de l'hypophyse.

Le rôle de la surrénale dans la mobilisation des lipides n'est plus à discuter, les travaux de SCHAEFFER et Coll. ont bien établie le mécanisme d'action. La mobilisation des réserves est sous la dépendance des hormones corticales et l'ampleur de la mobilisation sous celle de l'adrénaline. Ces données ont été confirmées par de nombreux auteurs, en 1958 WOOL et GOLDSTEIN [237] ont montré que l'hormone pituitaire n'agissait pas directement mais par l'intermédiaire de la surrénale.

L'observation de WAHI et TANDON, que la cirrhose était réversible tant que la surrénale est en bon état et devient irréversible quand la glande est lésée est du plus haut intérêt.

RECHERCHE D'UN MÉCANISME D'ACTION DU TOXIQUE.

L'examen des résultats que nous avons obtenus, tant par l'observation des animaux intoxiqués que par la comparaison des trois stéatoses, nous amène à tracer un schéma possible de l'action du toxique.

Si nous envisageons l'intoxication ménagée, la première manifestation de l'action du toxique est un « stress » de la surrénale, se faisant par l'intermédiaire de l'hypophyse et provoquant une mobilisation des lipides à partir des graisses de réserves, associée au stockage par le foie elle donne les premières images des stéatoses. En même temps il s'associe des phénomènes plus complexes, faisant intervenir le métabolisme des protéines, avec une action sur les ribonucléoprotéines, sur certains enzymes et co-enzymes et sur le cycle de KREBS. Il s'agit alors d'une action secondaire sur la cellule hépatique sans relation avec la mobilisation des lipides, mais accentuant la stéatose en ralentissant le catabolisme des acides gras d'une part, et d'autre part en provoquant une nécrose. On peut dans ce cas invoquer une action physique directe du toxique, rompant les cénapses lipoprotéiques, modifiant les membranes cellulaires et mitochondriales, troublant les réactions de surface et les échanges énergétiques. Mais ces mêmes effets peuvent être attribués à une action sur le métabolisme de la choline, ce qui expliquerait les analogies entre les deux types de stéatoses, l'insensibilité de la stéatose toxique à un apport de choline en excès et serait peut être lié aux troubles nerveux observés chez nos animaux lors d'intoxications graves.

Il est peu probable que l'action du toxique soit limitée à un seul facteur qui serait déterminant pour tous les troubles observés, la grande toxicité du tétrachlorure de carbone est certainement due au fait qu'il provoque directement plusieurs troubles concomitants.

Mais on ne peut dégager de nos observations aucun éclaircissement sur l'installation de la fibrose. Le mécanisme provoquant le développement du tissu conjonctif, s'il est en rapport avec les lésions du foie ne peut être rattaché directement avec aucunes d'elles.

RÉSUMÉ.

Nous nous étions donné pour but au début de ce travail la recherche de critères précis permettant de distinguer les foies gras par intoxication. Nous pensions qu'une variation de la composition des lipides au cours de leur accumulation pouvait exister et être intéressante. Nous avons pu montrer, contrairement à notre hypothèse, par des techniques de centrifugation différentielle associées à des techniques chromatographiques, que la composition des lipides de constitution et des lipides d'accumulation n'est pas modifiée. La surcharge n'est pas influencée par le sexe des animaux.

L'étude histologique faite simultanément permet de rapprocher les images observées au microscope de certains résultats biochimiques. La disparition de la basophilie du cytoplasme est concomitante d'une chute des protéines ; l'apparition d'une nécrose qui accentue cette diminution des protéines provoque également une diminution des lipides libres ; cette nécrose très précoce est accompagnée d'une dégénérescence hydropique. Il apparaît en même temps de très nombreuses mitoses.

D'autre part certains caractères qui rapprochent la stéatose toxique de la stéatose nutritionnelle avec déficience en choline, tels que la fonte des protéines, la dégénérescence des mitochondries et une certaine altération des noyaux permet d'émettre l'hypothèse d'une atteinte du métabolisme de la choline par le toxique et apporte quelques restrictions à l'idée d'une attaque physique directe des mitochondries par le tétrachlorure de carbone. Par contre les résultats obtenus renforcent l'idée de l'indépendance qui existe entre la surcharge lipidique et les troubles du métabolisme des protéines et des glucides ; ces troubles paraissent cependant nécessaires à l'évolution pathologique du foie gras. La diminution de l'activité enzymatique semble être ici une conséquence plutôt qu'une cause de l'accumulation des lipides. Ces résultats font apparaître en outre tout l'intérêt d'une étude comparative associant plusieurs disciplines telles que la biochimie et l'histologie.

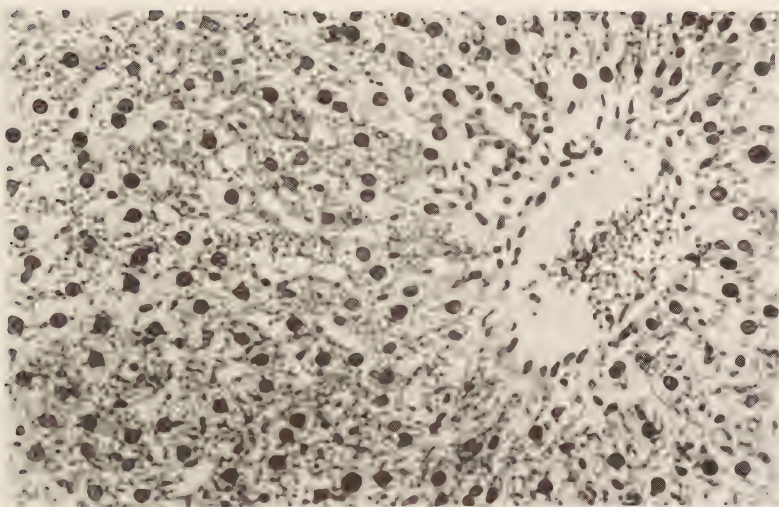


FIG. 1. — Régime I, LIPIDES.

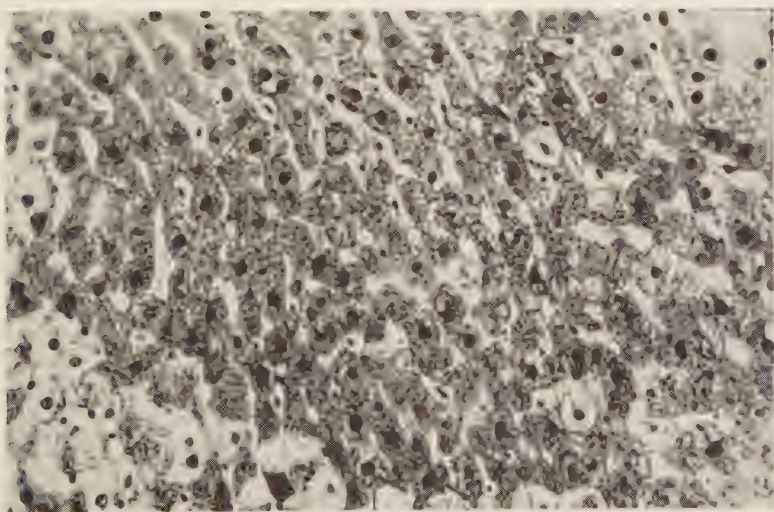


FIG. 2. — Régime I, GLYCOGÈNE.

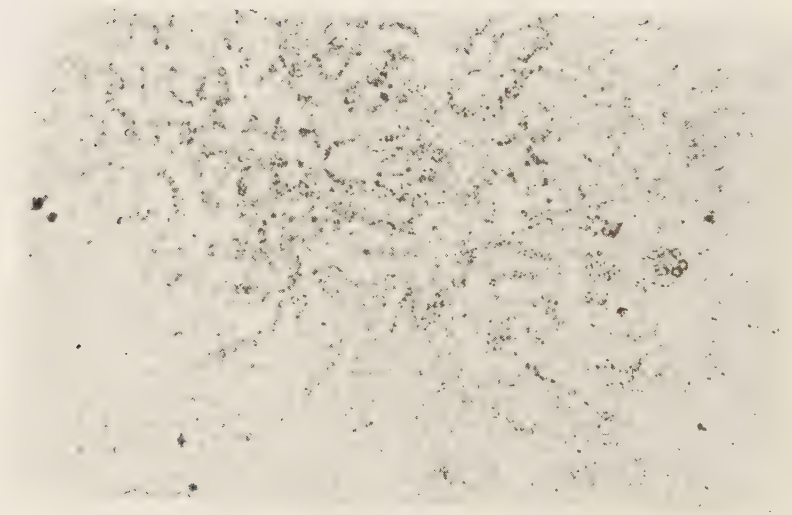


FIG. 3. — Régime II, LIPIDES.



FIG. 4. — Régime II, GLYCOGÈNE.

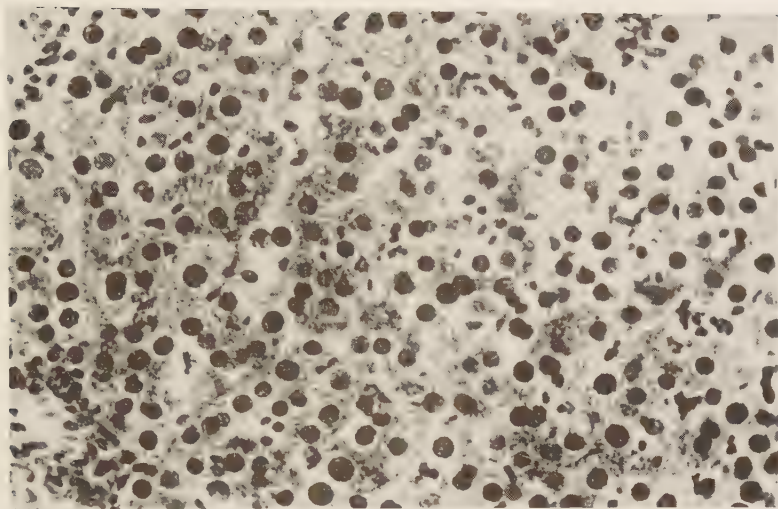


FIG. 5. — Intoxication, LIPIDES, petite surcharge.

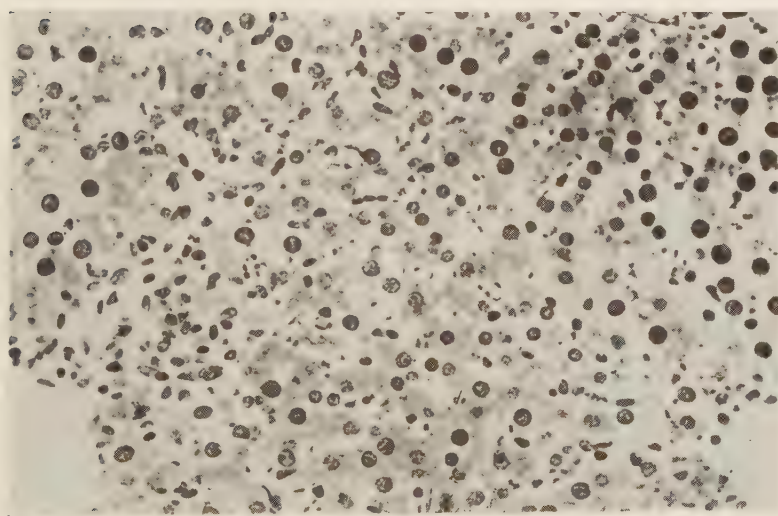


FIG. 6. — Intoxication, LIPIDES, VACUOLLES plus grosses.

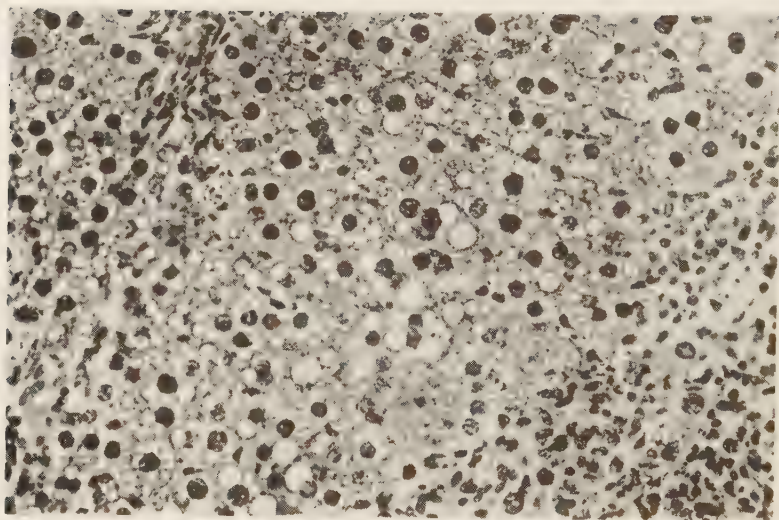


FIG. 7. — Intoxication, LIPIDES, dégénérescence.

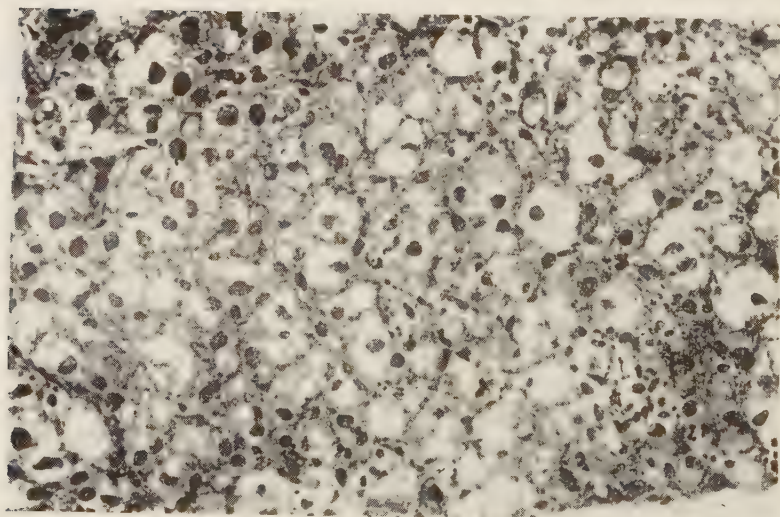


FIG. 8. — Intoxication, LIPIDES, nécrose.

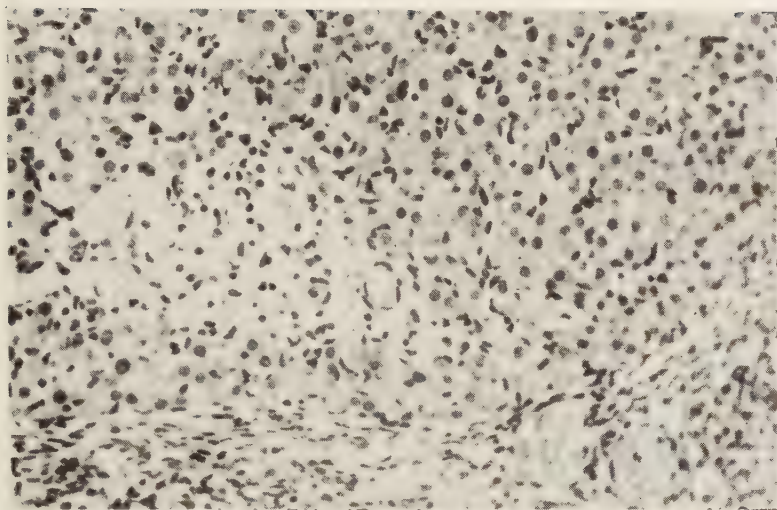


FIG. 9. — Intoxication, petite nécrose (hémalum).

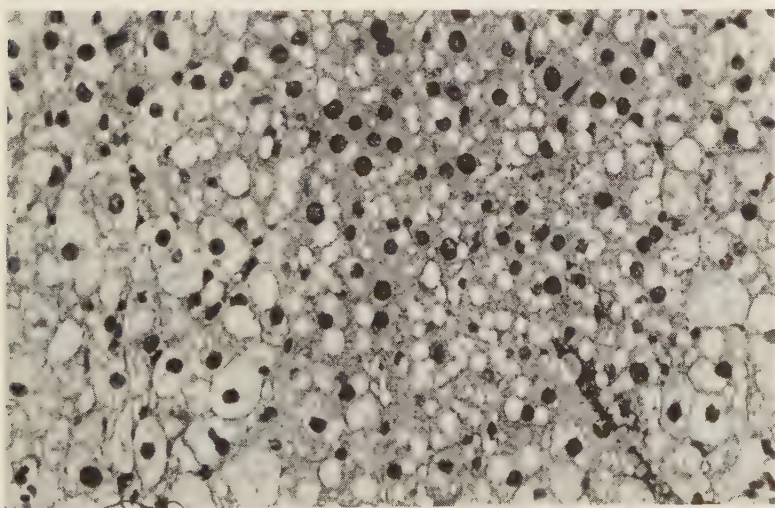


FIG. 10. — Intoxication, nécrose plus étendue, cellules hydropiques.

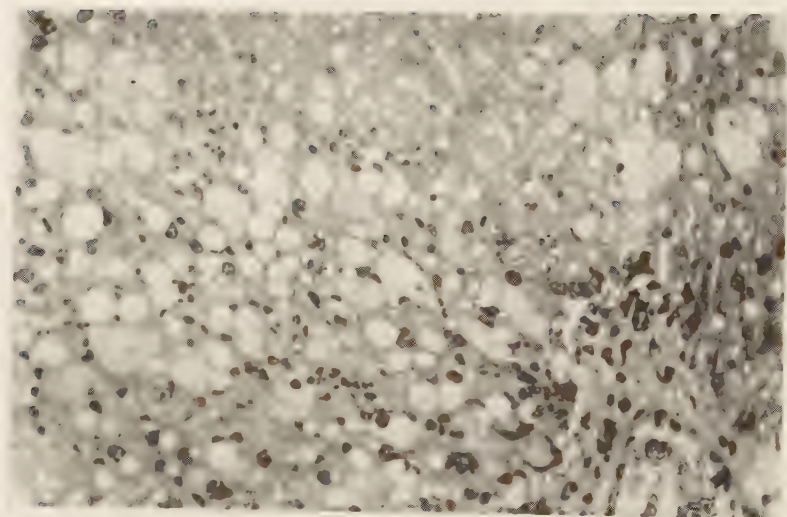


FIG. 11. — Intoxication, foie très nécrotique.

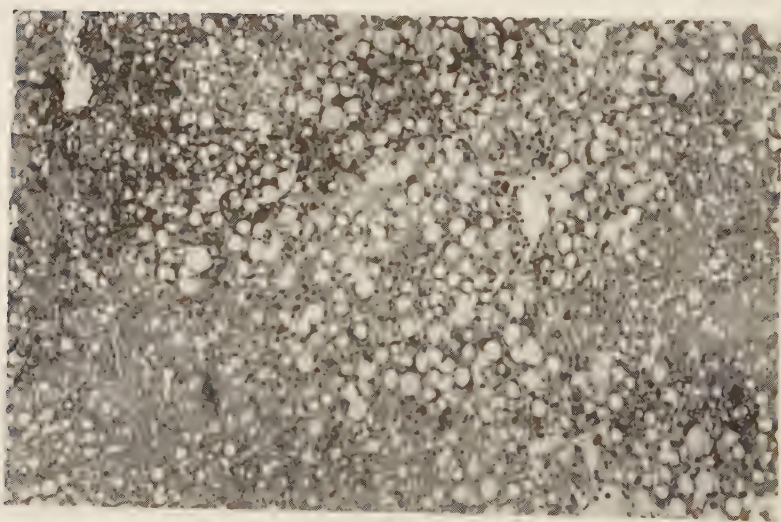


FIG. 12. — Intoxication, vue d'ensemble, foie nécrotique.

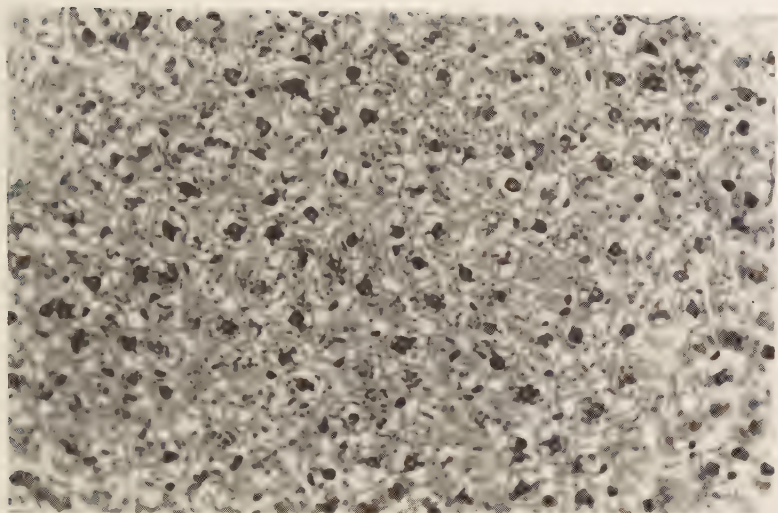


FIG. 13. — Intoxication, disparition du glycogène, premier stade.

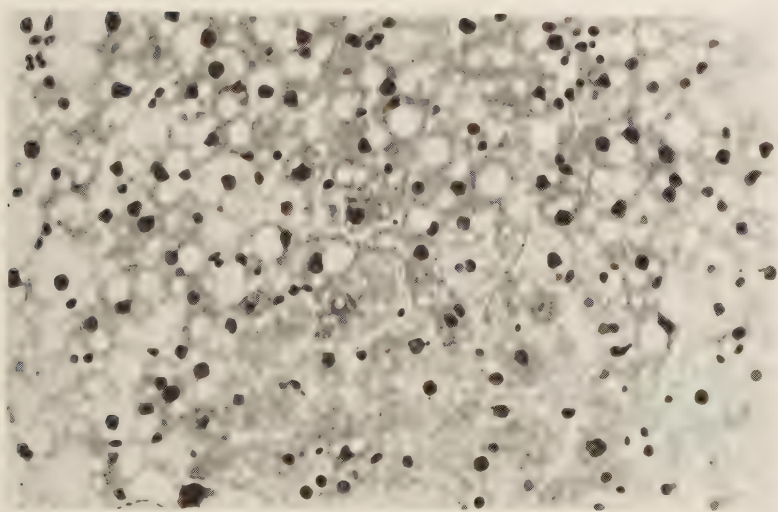


FIG. 14. — Intoxication, disparition du glycogène, 2^e stade.

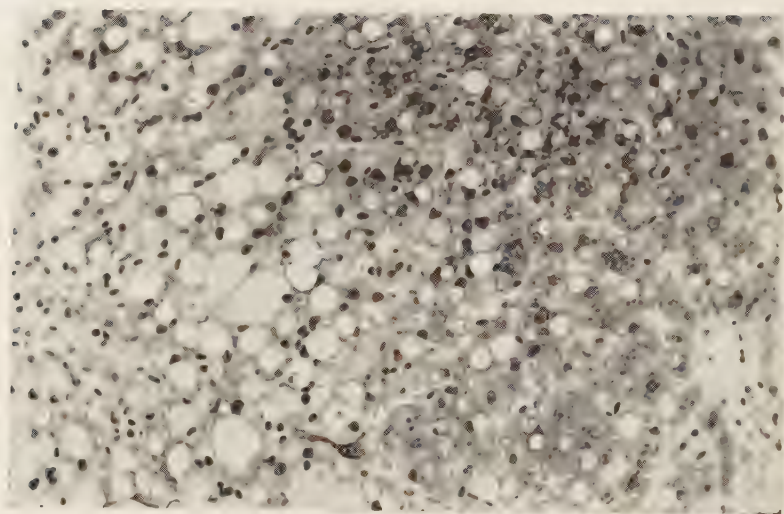


FIG. 15. — Intoxication, disparition des estérases, 1^{er} stade.

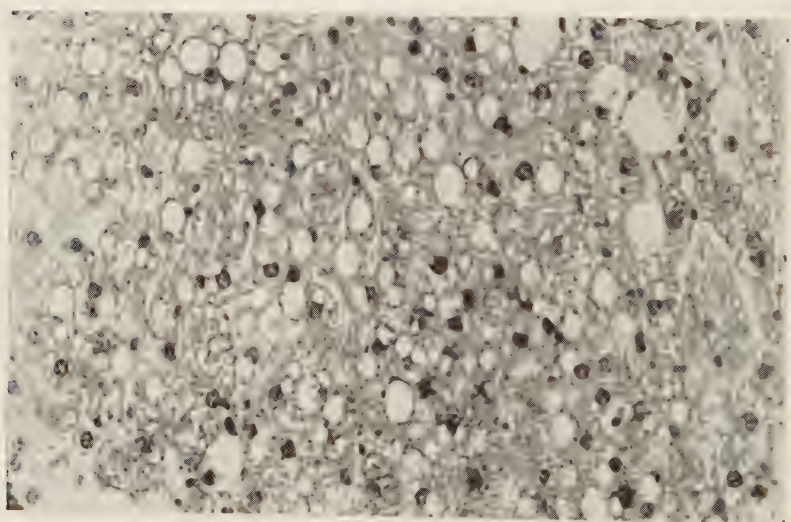


FIG. 16. — Intoxication, disparition des estérases, 2^e stade.

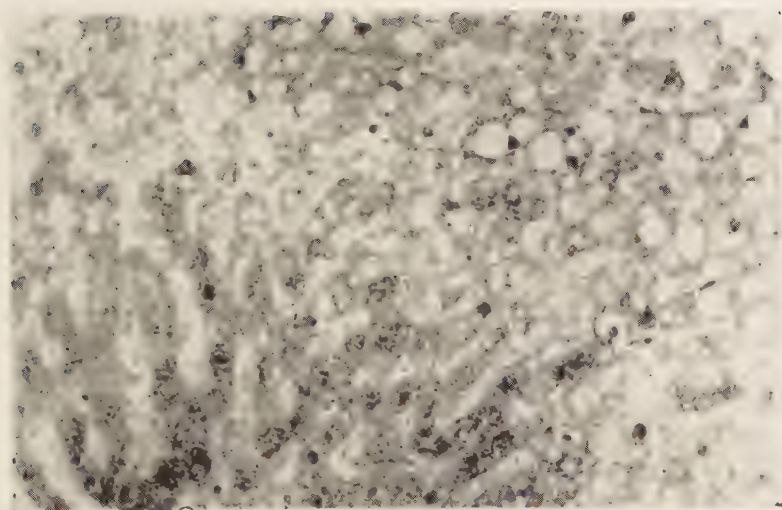


FIG. 17. Intoxication, disparition des estérases, 3^e stade.



FIG. 18. — Intoxication, disparition de la basophilie du cytoplasme.

BIBLIOGRAPHIE.

1. ALLFREY V., STERN H., MIRSKY A. E., SAETREN H. J. — *J. Gen. Physiol.*, 1952, **35**, 559.
2. AMELOTI G. — *Criminologica Ital.*, 1954, **14**, n° 6, 339-362.
3. ASHWORTH C. T. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1947, **66**, 382.
4. ARMSTRONG G. E. F., ALLAN J. — *J. Soc. Chem. Ind.*, 1924, **43**, 216 t.
5. ARTOM G. — *Arch. Sci. Physiol.*, 1953, **7**, 311-324.
6. *Nature Lond.*, 1953, **171**, 347.
7. *J. Biol. Chem.*, 1953, **205**, 101.
8. II. Coll. Int. sur les problèmes des lipides, Gand, 1955.
9. ARTOM C., CORNATZER W. E. — *J. Biol. Chem.*, 1947, **171**, 779.
10. *J. Biol. Chem.*, 1948, **178**, 949.
11. ARTOM C., FISHMAN W. H. — *J. Biol. Chem.*, 1947, **170**, 587.
12. ARRIGO L., FRASIMO M. — *Osmologia Ital.*, 1955, **15**, n° 3, 258-276.
13. AUJARD C., CHANY E. — *C. R. Soc. Biol.*, 1957, **151**, n° 7, 1362.
14. *C. R. Soc. Biol.*, 1957, **151**, n° 2, 251 et 300.
15. BARGONI N. — *Experientia*, 1951, **140**, 247-253.
16. BARONE G., PARISI A. — *Patol. Sper. Ital.*, 1954, **42**, n° 3, 182-187.
17. BARET H. M., BEST C. H., RIDOUT J. H. — *J. Physiol.*, 1939, **97**, 103-106.
18. *J. Physiol.*, 1935, **93**, 367.
19. BEST C. H., RIDOUT J. H. — *Ann. J. of Physiol.*, 1933, **78**, 415.
20. BEST C. H., RIDOUT J. H., MAC LEAN D. L. — *J. Physiol.*, 1935, **83**, 275-284.
21. BEVAN A. D., FAVILL H. B. — *Am. J. Ma.*, 1905, **45**, 691-696 et 764-769.
22. BLOCK W. D., CORNISH H. H. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1958, **97**, n° 1, 178-180.
23. BLOOR W. R. — *Biochem. of the fatty acids*. Reinhold edit., 1953, N.Y.
24. BOLLMAN J. L., MANN F. C. — *Ann. Int. Med.*, 1936, **115**, 201-206.
25. *Ann. Int. Med.*, 1931, **5**, 699-711.
26. BORDAS. — *Ann. des falsifications*, 1912, **5**, 581-586.
27. BORGSTROM B. — *Act. Phys. Scand.*, 1952, **25**, 110.
28. BRACHET J. — *Biol.*, 1940, **133**, 86.
29. *A. Biol.*, 1941, **53**, 207.
30. CACHERA R., LAMOTTE M., LAMOTTE-BARRILLON S. — *Acta Gast. Enterolog. Belg.*, 1952, fasc. 3, 145-206.
31. Ass. Et. Physio-Path. Foie, 1950, n° 3, 4-60.
32. CACHERA R., LAMOTTE M., DARNIS F. — *Journées des foies gras*, mai 1953 (C.N.R.S.).
33. CALI U. — *Bull. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1955, **31**, 948-950.
34. CALIFANO L. — *La Sperimentale*, 1934, **88**, 325-335 et 345-353.
35. *Biochem. Zeits.*, 1937, **289**, 354-364.
36. CAMERON G. R., MAYES B. T. — *J. Path. Bact.*, 1930, **33**, 799-831.
37. CAMINADE. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1922, **4**, 601.
38. CARLAV. — Thèse de doctorat, 1903.
39. CASPER J. L. — *Wehnochr. F. d. ges. Halh.*, 1850, **16**, 273-281.
40. CECCALDI P. F., WEGMANN R., BIEZ-CHARRETON J. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1954, **36**, 145.
41. CHAIKOFF I. L., GILLMANN T., ENTENMANN C., RINEHART J. F., REICHERT F. L. — *J. Exper. Med.*, 1948, **88**, 1.
42. *J. Exper. Med.*, 1953, **237**, 97.
43. CHAMPOUGNY J. — Thèse de doctorat, Paris, 1946.
44. CHANDLER A. C., CHOPRA R. N. — *Indian J. Med. Research*, 1926, **14**, 219-226.
45. CHANUTIN A., LUDEWIG S. — *J. Biol. Chem.*, 1933, **102**, 57.
46. CHANNON H. J., WILKINSON H. — *Biochem. J.*, 1934, **28**, 2026.
47. CHARLOT-HAIMOVICI D. — *Arch. Sci. Physiol. Fr.*, 1957, **11**, 169-178.
48. CLÉMENT G., HAIMOVICI D., LE BRETON E. — *C. R. Ac. Sci.*, séance du 2 Mai 1955.

49. CLÉMENT G. — *Arch. Sc. Physiol.*, 1948, 2, 95.
50. *Arch. Sc. Physiol.*, 1950, 4, 5-13-295.
51. *Arch. Sc. Physiol.*, 1951, 5, 169.
52. CLÉMENT G., CLÉMENT J., LE BRETON E. — *C. R. Ac. Sci.* 1952, 234, 2006.
53. *C. R. Ac. Sci.*, 1953, 236, 2107.
54. CLÉMENT G., CLÉMENT-CHAMPOUGNY J., LE BRETON E. — *Arch. Sc. Physiol.*, 1951, 5, 305.
55. CLÉMENT G., CLÉMENT J., LOUEDEC A. — *Arch. Sc. Physiol.*, 1954, 8, 233-250.
56. CHAUVEAU J., CLÉMENT G. — *Arch. Sc. Physiol.*, 1951, 5, 277.
57. CHRISTIE G. S., JUDAH J. D. — *Proc. R. Soc. London*, 1954, 142, 241-257.
58. COOK R. P., EDSON N. L. — *Biochem. J.*, 1936, 30, 1637.
59. COVA N. — *Biol. Latina*, 1957, 10, 777-783.
60. *Biol. Latina*, 1957, 10, 467-475.
61. DAM H., ENGEL P. F., KOFOED NIELSEN G. — *Acta Physiol. Scandi.*, 1956, 37, 149.
62. DAM H., ENGEL F. — *Acta Physiol. Scandi.*, 1958, 42, 28-35.
63. DANIEL P. N., PRICHARD M. L., REYNOLD P. C. — *J. Path. Bact. G. B.*, 1952, 64, 53-60.
64. — *J. Path. Bact. G. B.*, 1952, 64, 61-64.
65. DARNAUD C., FERRET P., VOISIN R., MOREAU G. — *C. R. Soc. Biol.*, 1951, 148, 1870.
66. DAVIS N. C. — *J. Med. Research*, 1924, 44, 601-614.
67. DIANZANI M. V. — *Arch. Sc. Biol.*, 1950, 34, 453-471.
68. *Arch. di Physiol.*, 1951, 50, 181-186.
69. *Arch. di Physiol.*, 1951, 50, 175-180.
70. *Arch. di Physiol.*, 1952, 51, 187-191.
71. *Biochemica Biophysica acta*, 1954, 14, 514.
72. *Biochemica Biophysica acta*, 1955, 17, 170-391.
73. *Nutrition Reviews*, 1956, 14, 57.
74. DE LUCIA C. A. F. — *Rev. Fac. Genequini (La Plata)*, 1943, 18, 199-210.
75. DOUNCE A. L., TOCHKOFF G. H., BARNETT S. R., FREER R. M. — *J. Gen. Physiol.*, 1949, 33, 629.
76. DRILL V. A., LOOMIS T. A. — *Science*, 1946, 103, 199-201.
77. *J. Pharmac. Exp. Therap.*, 1947, 90, 138-139.
78. DRILL V. A. — *Pharmac. Rev.*, 1952, 4, 1-42.
79. ECKESTEIN A. C. — *J. Biol. Chem.*, 1952, 195, 167.
80. EDWARDS J. E. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1941, 2, 197-199.
81. EDWARDS J. E., DALTON A. J. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1942, 3, 19-41.
82. EDWARDS J. E., DALTON A. J., ASTON W. S. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1942, 3, 297-301.
83. ENGEL R. W. — *J. of Nutrit.*, 1942, 24, 175.
84. ELLIS S., SANDERS S., BODANSKY O. — *J. Pharm. Exp. Ther.*, 1947, 91, 255-262.
85. ENNOR A. H. — *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sc.*, 1942, 20, 73-80.
86. *Brit. J. Exp. Path.*, 1949, 30, 389-394.
87. ENNOR A. H., STOCKEN L. A. — *Biochem. J.*, 1948, 42, 549-557.
88. EPPLE L. A., NEAL P. A., DAFT F. S., ENDICOTT K. M., PORTERFIELD U. T. — *J. Ind. Hyg. Tox.*, 1945, 27, 15-21.
89. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 1945, 84, 53-63.
90. ESCHEN BOEIMER A. B., MILER E. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1946, 6, 325-341.
91. FLOCK E. V., BOLLMAN J. C. — *J. Biol. Chem.*, 1944, 156, 151-160.
92. FOULERTON A. G. R. — *Brit. Med. J.*, 1920, 1, 864-867.
93. FRANKE K. W., POTTER V. R. — *J. Nutr.*, 1936, 12, 205-214.
94. FRUNDER R. H., DITTRICH H., LACHEIN L. — *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. Dtsch.*, 1955, 301, 210-223.
95. GABE M. — Symposium sur les polysaccharides, Lyon, 1958.
96. GIRAUD G., BERT J. M., CAZAL P. — *Rev. du Foie*, 1945, 4, 194.
97. GLYNN L. E., HIMSWORTH H. P. — *Clin. Sc.*, 1948, 6, 235-245.
98. GLYNN L. E., HIMSWORTH H. P., LINDAN O. — *Brit. J. Exp. Path.*, 1948, 29, n° 1.
99. GOMORI G. — *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med.*, 1939, 42, 23.
100. *J. Cell et Comp. Physiol.*, 1941, 17, 71.
101. *Amer. J. Path.*, 1943, 19, 197.

102. *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med.*, 1945, 58, 362.
103. GORTNER R. A. — *J. of Nutr.*, 1940, 19, 105-112.
104. GRIFFITH W. H., NYE J. F., HARTROFT W. S., LUCAS C. C., BEST C. H. — Choline in the vitamins Vol. 2, N. Y. Acad. Press 1954.
105. GRIGAUT A. — *C. R. Soc. Biol.*, 1910, 68, 721.
106. GUSSEROW. — *Arch. Pharm.*, 1828, 27, 153.
107. GYORGY P., GOLDBLATT H. — *J. Exp. Med.*, 1939, 70, 185.
108. *J. Exp. Med.*, 1940, 72, 1.
109. *J. Exp. Med.*, 1942, 75, 355.
110. *J. Exp. Med.*, 1949, 90, 73.
111. GYORGY P. — *Amer. N. Y. Acad. Sci.*, 1948, 49, 525.
112. *Bull. Soc. Sci. Hyg. Alim.*, 1954, 42, 152.
113. GYORGY P., SEIFER J., TOMARELLI R., GOLDBLATT H. — *J. Exp. Med.*, 1946, 83, 449-462.
114. GYORGY P., ROSE C. S., GOLDBLATT H. — *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.* 1948, 67.
115. HALL M. C. — *Amer. J. Trop. Med.*, 1922, 2, 373-377.
116. HALL M. C., SCHILLINGER J. E. — *J. Agri. Res.*, 1923, 23, 163-19L.
117. HALLIDAI N. — *J. of Nutrit.*, 1938, 16, 285.
118. HANDLERS P., FOLLIS R. H. — *J. Nutrit.*, 1948, 35, 669.
119. HARRISON M. F. — *Biochem. J. G. B.*, 1953, 55, 195.
120. HARTMANN F., LEUSCHNER F. — *Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak.*, 1951, 212, 167-176.
121. HARTROFT W. S. — *Anat. Record*, 1950, 106, 61.
122. HARTROFT W. S., RIDOUT J. H. — *Amer. J. Path.*, 1951, 27, 951-989.
123. HEBERT S., ROUX J. M., DEMAY A. — *Ann. Histochim.*, 1957, 2, 181-186.
124. HILDITCH T. P., COLLIN G., LEA C. H. — *J. Soc. Chem. Ind.*, 1929, 48, 46t.
125. HILDITCH T. P., SHORLAND F. B. — *Biochem. J.*, 1937, 31, 1499.
126. HIMSWORTH H. P., GLYNN L. E. — *Clin. Sc.*, 1944, 5, 93.
127. HIMSWORTH H. P. — *Lectures on the liver and eats diseases*, Oxford 1948.
128. HOGEBOOM G. H., SCHNEIDER W. C., PALLADE G. E. — *J. Biol. Chem.*, 1948, 172, 619.
129. HOWLAND J., RICHARDS A. N. — *J. Exp. Med.*, 1909, 11, 344-372.
130. JACOB A. — *C. R. Acad. Sc.*, 1953, 237, 101.
131. JACOB A., LE BRETON E. — II^e congrès international de biochimie de Paris, 1952.
132. JUDD E. S., KEPLER E. S., RYNEARSON E. R. — *Ann. J. Surgery*, 1944, 24, 345.
133. JUNKERSDORF P., KOHL A. — *Pfluger's arch.*, 1926, 211, 612.
134. KARK R. M., KEETON R. W., CALLOWAY N. O., MOREY G. R., CHAPMAN R. A., KYLE R. H. — *Arch. int. Med. USA*, 1951, 88, 61-77.
135. LACHAUD R. — Thèse Bordeaux 1939.
136. LACHASE A., LEVY M. — *Arch. Sc. Physiol. Fr.*, 1955, 9, 63-70.
137. LACQUET A. M. — *Arch. Path.*, 1932, 14, 164-176.
138. LANSON P. D., GARDNER G. H., GUSTAFSON R. K., MARIE E. D., MAC LEAN A. J., WELLS H. S. — *J. Pharm. Exp. Therap.*, 1923, 22, 215-288.
139. LANSON P. D., WING R. — *J. Pharm. Exp. Therap.*, 1926, 29, 191-202.
140. LAZAREW N. W. — *Arch. Exper. Path. u. Pharmak.*, 1929, 141, 19-24.
141. LE BRETON E. — *Ann. Nutr. Alim.*, 1953, 7, c 363.
142. *Overdruk uit « Voeding »*, 1955, 16, 373-377.
143. LE BRETON E., CLÉMENT-CHAMPOUGNY. — *C. R. Soc. Biol.*, 1945, 139, 919.
144. *C. R. Soc. Biol.*, 1947, 141, 43-45.
145. LE COUNT F. R., SINGER H. A. — *Arch. Pathol.*, 1936, 1, 84.
146. LEMELAND. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1922, 4, 300.
147. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1923, 5, 110.
148. LEVY M. — *Ann. Nutr. Alim.*, 1948, 2, 179.
149. *Arch. Sci. Physiol.*, 1950, 4, 179-231.
150. *Arch. Sci. Physiol.*, 1951, 5, 289-304.
151. « Récents progrès en physiologie » Paris P.U.F. 1956, 113-146.
152. LEVY M., LEGRAND J. — *Arch. Sci. Physiol.*, 1953, 7, 63-84.
153. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1954, 36, 789-798.
154. LEVY M., AMAT G., LEGRAND J. — *C. R. Acad. Sc.*, 1953, 236, 2267-8.
155. LILLIE R. D., SMITH M. I. — *Amer. J. Path.*, 1936, 16, 495-503.
156. LIT W., FREEMAN S. — *Amer. J. Physiol.*, 1946, 145, 646-659.
157. LIT W., FREEMAN S. — *Amer. J. Physiol.*, 1947, 148, 358-364.

158. LOEFLEER L., NORDMAN M., LEBERSTUDIEN T. — *Arch. f. Path. Anat.*, 1925, 257, 119-181.
159. LOEPER J., LOEPER L. — *C. R. Soc. Biol.*, 1952, 146, 262-264.
160. *C. R. Soc. Biol.*, 1952, 146, 61-62.
161. LOUEDEC A. — *C. R. Acad. Sc. séance du 10 mars 1958.*
162. MAC LEAN D. L., RIDOUT J. H., BEST C. H. — *Brit. J. Exp. Path.*, 1937, 18, 345-354.
163. MAC CLOSKEY J. F., MAC GETTEE E. H. — *Arch. Path.*, 1949, 49, 200-204.
164. MAKENSIE C. G., DU VIGNEAUD V. — *J. Biol. Chem.*, 1953, 195, 487.
165. MACHEBOEUF M., BERGER JEULIN. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1950, 32, 17.
166. MALLORY F. B. — *Amer. J. Path.*, 1933, 9, 557-567.
167. MALLOV S. — *Proc. Soc. Exp. Med.*, 1958, 97, 226.
168. MARINETTI G. V., CHRAMUZZINO D. J., STOTZ-ELMER. — *J. Biol. Chem.*, 1957, 224, 819-826.
169. MORGAN A. F., LEWIS E. M. — *J. Biol. Chem.*, 1952, 200, 839.
170. MAYER A., RATHERY F. R., SCHAEFFER G., TERROINE E. — *C. R. Soc. Biol.*, 1914, 74, 49.
171. MERING J. Von, MINKOWSKI O. — *Arch. Exp. Path. Pharmac.*, 1890, 26, 370-387.
172. MEIER R., THOENES E. — *Arch. Exp. Path. Pharmac.*, 1933, 169, 655-666.
173. MEIKLEHAM V., WELLS I. C., RICHERT D. A., WESTERFIELD W. W. — *J. Biol. Chem.*, 1951, 192, 651-661.
174. MEYER J. R., PESSOA S. B. — *Amer. J. Trop. Med.*, 1923, 3, 177-196.
175. MEZZASALMA CERBONE. — *Folia medica*, 1954, 37, 901-909.
176. MYASAKI d'après RUBINO.
177. MONESI V. — *Riv. Istochim. norm. Patol. Ital.*, 1957, 3, 259-293.
178. MONTINI T., ARRIGO L. — *Bull. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1951, 27, 1376-1378.
179. MOORE B. — *Res. Com. Lond. Special report séries*, 1918, n° 11, 1-85.
180. MOSSINGER M., FIORENTINI H. — *An. Med. Leg. Fr.*, 1955, 35, 40-41.
181. MOURLON F. A. — *Strasbourg, congrès 1853.*
182. MOXON H. L., RHIAN M. — *South Dakota Agr. St. Bull.*, 1947, 31, 1-97.
183. MULDER S. — *Arch. Exp. Path. u. Pharmac.*, 1925, 109, 276-294.
184. MUNRO H. N. — *Proc. Nutr. Soc.*, 1954, 13, 115-120.
185. NOVIKOF A. B. — III^e inter. Cong. Biochem. Conf. et Rep., Bruxelles août 1955.
186. OBERLING Ch., ROUILLER Ch. — *Ann. Anat. Path.*, 1956, 1, 401-427.
187. OKEY R. — *J. Biochem.*, 1933, 100, 75.
188. OPIE E. L., ALFORD L. B. — *J. Exp. Med.*, 1915, 21, 1-20.
189. PATTERSON J. M., MAC HERY. — *J. Biol. Chem.*, 1944, 156, 265.
190. PASTERNAK L., PAGE I. H. — *Biochem. Z.*, 1932, 252, 254-277.
191. PEET M., SAMPSON M. M. — *Science*, 1948, 107, 548.
192. PERLMAN I., CHAIKOFF I. L. — *J. Biol. Chem.*, 1939, 127, 211.
193. *J. Biol. Chem.*, 1939, 128, 735.
194. *J. Biol. Chem.*, 1939, 130, 593.
195. RAMAN S. — *Biochem. J.*, 1952, 52, 320.
196. RAPPAPORT A. M., KNISELY M. H., RIDOUT J. H., BEST C. H. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1958, 97, 792-825.
197. RIDOUT J. H., LUCAS H., PATTERSON J., BEST C. H. — *Biochem. J. G. B.*, 1954, 58, 297-301.
198. ROBBINS R. H. — *J. Pharm. Exp. Therap.*, 1929, 37, 203-216.
199. ROSENFELD G. — *Arch. Exp. Path. Pharmac.*, 1932, 166, 211-221.
200. ROSENTHAL O., FAHL J. C., KARN G. M., ROGER G. S. — *Fed. Proc.*, 1950, 9, 220-221.
201. RUBINO F. — *Arch. di Sci. Biol.*, 1952, 36, 147-152.
202. SALA G., BORASI M. — *Arch. Sci. Biol. Ital.*, 1951, 35, 103-109.
203. SCHAEFFER G., POLLACK A. — *C. R. Soc. Biol.*, 1938, 127, 76.
204. SCHAEFFER G., CLÉMENT G. — *C. R. Soc. Biol.*, 1947, 141, 320.
205. SCHULTZ E. W., HALL E. N., BAKER A. V. — *J. Med. Research*, 1924, 44, 207-230.
206. SEVERI C., FORNESU A. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1956, 91, 368-369.
207. SMETANA H. — *Bull. N. Y. Acad. Med.*, 1952, 28, 482.
208. SPITERI J. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1954, 36, 1355.
209. STEAMMLER D. — *Klin. Work*, 1926, 4, 134-136.
210. STOWELL E., LEE C. S. — *Arch. Path.*, 1950, 50, 519-537.
211. STRAUSS R., WILKINSON A., VURM M. H., HAEROLD B. C. — *Ind. Med. Surg. USA*, 1956, 25, 151-154.

212. TALAGERI U. R., SAMATH K. D., BAXI A. J., VENKATARAMA P. R. — *Brit. J. Exp. Path.*, 1951, **32**, 118-123.
213. TERROINE F. — *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 1919, **7**, 1338.
214. THIEN C., FISCHER P. — *Deut. Med. Zeit.*, 1889, **10**, 1111-1114.
215. *Berlin Klin. Wochensh.*, 1866, **3**, 31-33.
216. THOMPSON M. J., WELLS H. S., LANSON P. D. — *Bull. J. Hopkins Hosp.*, 1925, **36**, 103-107.
217. TULBERT M. E., OKEY R. — *J. Biol. Chem.*, 1952, **194**, 755.
218. TREADWELL C. R., KING W. C., BELL K., TIDWELL H. C. — *J. Biol. Chem.*, 1942, **143**, 203-209.
219. TSUBOI K. K., STOWELL R. E., LEE C. S. — *Cancer Res.*, 1951, **11**, 87-93.
220. TWITCHELL E. — *J. Ind. Eng. Chem.*, 1921, **13**, 806.
221. VALORI P. — *Bull. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1951, **26**, 814-816.
222. VARENTRAPP F. — *Annal.*, 1840, **35**, 196.
223. VERNE J. — *Ann. Biol.*, 1954, **30**, 129-143.
224. *Ann. Biol.*, 1953, **29**, 517-530.
225. VERNE J., CECCALDI P. F., BIEZ-CHARRETON J. — *Sem. Hôp. Paris*, 1956, 32^e année, n° 3.
226. VELU ZOTTNER. — *C. R. Soc. Biol.*, 1932, **109**, 354-355.
227. VILLELA G. G., MITIDIERI R. — *Nature*, 1955, **175**, n° 4444-4458, 208.
228. WAGNER H., SEELIG E., BERNHARD K. — *Schweiz. Med. Wschr.*, 1957, **87**, 1323-1327.
229. WAHI P. N., ARORA M. M. — *New Eng. J. Med.*, 1953, **248**, 451.
230. WAHI P. N., TANDON H. D., BHARADWA T. P. — *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 1955, **37**, 305 et 315.
231. *Arch. Path. USA*, 1956, **62**, 260.
232. WAKIM P. N., MANN F. C. — *Arch. Path.*, 1942, **33**, 198-203.
233. WANG C. F., HEGSTED M. D., LAPI A., ZAMCHAECK N., BLACK M. B. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1949, **34**, 953-964.
234. WEINMAN E. O., CHAIKOFF I. L., ENTENMAN C., DAUBEN W. G. — *J. Biol. Chem.*, 1951, **187**, 663-669.
235. WHIPPLE G., SPERRY J. A. — *Bull. J. Hopkins Hosp.*, 1909, **20**, 278-289.
236. WITTER R. F., WATSON M. L., COTTONE M. A. — *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1955, **1**, 127.
237. WOOL I. G., GOLDSTEIN M. S. — *Amer. J. Physiol.*, 1958, **193**, 65-68.
238. ZILVERSMIT D. N., ENTENMAN C., CHAIKOFF I. L. — *J. Biol. Chem.*, 1948, **176**, 193-208.
-

TABLE DES MATIÈRES.

AVANT-PROPOS	5
INTRODUCTION	7
Les stéatoses toxiques	7
Les différents foies gras classés par leurs moyens de production	10
Les manifestations communes à la plupart des stéatoses ...	11
Evolution	11
Troubles du métabolisme	12
Composition chimique du foie gras	12
Point de vue général et hypothèse de travail	13

Première partie. — Matériel et méthodes.

I. — PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL.

1) <i>Choix des animaux</i>	15
Elevage, régime, animal témoin	15
2) <i>Les traitements</i>	16
a) Intoxications :	
par inhalation, méthodes et critiques	16
par injection, travaux antérieurs, méthodes et critiques	16
b) Régimes :	
raison de leur choix	17
composition : Régime I	17
Régime II	18
3) <i>Le protocole</i>	18
Les moyens d'investigation	18
Les critères employés	18

II. — TECHNIQUES DE RECHERCHES.

1) <i>Techniques histochimiques</i>	18
Choix des fixateurs	18
Les techniques d'histologie courantes	19
Les techniques d'histochimie	19
a) Les enclaves :	
enclaves lipidiques	19
enclaves glycogéniques	19
b) Les enzymes :	
phosphatase alcaline	20
estérase non spécifique	21
c) Les acides nucléiques	22
2) <i>Techniques biochimiques</i>	22
a) Méthode de fractionnement cellulaire	22
b) Méthode d'extraction des lipides totaux	24
Traitement des culots	24
Traitement des surnageants	25
Traitement des graisses libres	25
c) Méthode de séparation des divers constituants lipi- diques	25
Les phospholipides	25
Les glycérides et l'insaponifiable	26
Les glycérides et les esters du cholestérol	26
d) Méthode d'analyse des acides gras	27
Les indices d'iode	27
La chromatographie sur papier	27
Le fractionnement des acides insaturés	30
e) Dosage de l'azote protéique	31

Deuxième partie. — Comparaison et conclusion.

<i>Mode d'expression</i>	33
Difficulté d'en trouver un qui rende compte fidèlement du métabolisme et des troubles possibles	33
Les résultats doivent être topographiques, chronologiques, analytiques	33
1) <i>Intoxication</i>	34
Résultats histochimiques	34
Résultats biochimiques :	
quantitatifs : les bilans	35
qualitatifs : les chromatogrammes	41

2) <i>Régime I</i>	43
Même plan	43
3) <i>Régime II</i>	49
Même plan	49

Troisième partie. — Comparaison et conclusion.

1) <i>Comparaison</i>	55
Evolution des trois stéatoses :	
dans leur aspect anatomique	55
dans leur composition chimique	56
2) <i>Conclusion</i>	63

Quatrième partie. — Discussion.

Position des résultats parmi ceux déjà acquis par les différents auteurs	65
Les points communs, les divergences, les oppositions entre les stéatoses	68
Essai d'interprétation dans le cadre d'un schéma de l'action hépatotoxique du tétrachlorure de carbone	75
RÉSUMÉ	77

DEUXIÈME THÈSE.

Propositions données par la Faculté :

Les réserves de glycogène
au cours du développement embryonnaire
des Mammifères

Vu et approuvé :

Paris, le

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

J. PERES.

Vu

et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean SARRAILH.



Achevé d'imprimer le 16 novembre 1959.

Imprimerie M. DECLUME, Lons-le-Saunier — 932-59-200.
Novembre 1959 « Dépôt légal 4^e trimestre 1959 — N° 4991 ».

Printed in France.